PCT

世界知的所有権機関 際事務局 国 特許協力条約に基づいて公開された国際出願



(51) 国際特許分類6 C12N 15/54, 9/10, A01H 1/00

(11) 国際公開番号 A1

WO99/05287

(43) 国際公開日

1999年2月4日(04.02.99)

(21) 国際出願番号

PCT/JP98/03199

JР

(22) 国際出願日

1998年7月16日(16.07.98)

(30) 優先権データ 特願平9/200571

1997年7月25日(25.07.97)

(71) 出願人(米国を除くすべての指定国について) サントリー株式会社(SUNTORY LIMITED)[JP/JP] 〒530-8203 大阪府大阪市北区堂島浜2丁目1番40号 Osaka, (JP)

(72) 発明者;および

(75) 発明者/出願人(米国についてのみ) 水谷正子(MIZUTANI, Masako)[JP/JP]

〒615-8083 京都府京都市西京区桂艮町18-21 Kyoto, (JP)

田中良和(TANAKA, Yoshikazu)[JP/JP]

〒520-0246 滋賀県大津市仰木の里2-7-4 Shiga, (JP)

久住高章(KUSUMI, Takaaki)[JP/JP]

〒564-0073 大阪府吹田市山手町2-12-21-402 Osaka, (JP)

斉藤和季(SAITO, Kazuki)[JP/JP]

〒289-1106 千葉県八街市榎戸663-86 Chiba, (JP)

山崎真巳(YAMAZAKI, Mami)[JP/JP]

〒260-0045 千葉県千葉市中央区弁天4-12-6 Chiba, (JP)

鞏 志忠(GONG, Zhizhong)[CN/JP]

〒263-0031 千葉県千葉市稲毛区稲毛東3丁目12番5号

並木コーポ201 Chiba, (JP)

(74) 代理人

弁理士 石田 敬, 外(ISHIDA, Takashi et al.)

〒105-8423 東京都港区虎ノ門三丁目5番1号 虎ノ門37森ビル

青和特許法律事務所 Tokyo, (JP)

AU, CA, CN, JP, KR, NZ, US, 欧州特許 (AT, (81) 指定国 BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE).

添付公開書類

国際調査報告書

(54)Title: GENES ENCODING PROTEINS HAVING TRANSGLYCOSYLATION ACTIVITY

(54)発明の名称 糖転移活性を有する蛋白質をコードする遺伝子

(57) Abstract

Genes encoding proteins each having an amino acid sequence represented by any of SEQ ID NOS: 7 to 10 and 12 and showing the activity of transferring a glycosyl group to the 5-position of a flavonoid; genes encoding proteins each having an amino acid sequence derived from any of the above amino acid sequences by modification and showing the activity of transferring a glycosyl group to the 5position of a flavonoid; and a process for producing the above proteins with the use of these genes. These genes are usable in, for example, artificially improving plant colors.

(57)要約

配列番号:7~10又は12のいずれかに記載のアミノ酸配列を 有しフラボノイドの5位に糖を転移する活性を有する蛋白質をコー ドする遺伝子、及び上記アミノ酸配列に対して修飾されたアミノ酸 配列を有し且つフラボノイドの5位に糖を転移する活性を有する蛋 白質をコードする遺伝子、並びに該遺伝子を用いる前記蛋白質の製 造方法を提供する。この遺伝子は、植物の色の人工的改良等のため に使用することができる。

PCTに基づいて公開される国際出願のパンフレット第一頁に掲載されたPCT加盟国を同定するために使用されるコード(参考情報)

```
S S S S S T T T T T T T U U U U V Y Z
```

明細書

糖転移活性を有する蛋白質をコードする遺伝子

技術分野

本発明は、フラボノイドの5位に糖を転移する活性を有する蛋白質をコードする遺伝子及びその利用方法に関するものである。

背景技術

花産業は新規かつ種々の品種を開発することに努力している。新規な品種の育成のための有効な方法の一つとして花の色を変えることがあり、古典的な育種方法を用いて、ほとんどの商業的品種について広範囲な色を生成することに成功している。しかしながら、この方法では種ごとで遺伝子プールが制限されていることから、単一の種が広範囲の種類の着色品種を有することは稀である。

花の色は主として2つのタイプの色素、即ちフラボノイド及びカロチノイドに基づき、フラボノイドは黄色から赤ないし青色の範囲に寄与し、カロチノイドはオレンジ又は黄色の色調に寄与する。花色に主たる寄与をするフラボノイド分子はシアニジン、デルフィニジン、ペチュニジン、ペオニジン、マルビジン及びペラルゴニジンの配糖体であるアントシアンであり、異なるアントシアンが顕著な花の色の変化をもたらす。さらに花の色は無色のフラボノイドの補助発色、金属錯体形成、グルコシル化、アシル化、メチル化及び液胞のpHにより影響される(Forkmann、Plant Breeding、106、1、1991)。

フェニルアラニンから始まるアントシアニンの生合成経路はよく 理解されており (例えばPlant Cell, 7、1071-1083, 1995)、生合

成に関わる遺伝子はほとんどクローニングされている。たとえば、シソのアントシアニンであるマロニルシソニン(3-0-(6-0-(p-))ロイル)- $\beta-D-$ グルコシル)-5-0-(6-0-マロニル- $\beta-D-$ グルコシル)-シアニジン)の生合成にかかわると考えられる遺伝子のうち、そのホモログが現在までに報告されていないものはフラボノイド-3'-ヒドロキシラーゼ、UDP-グルコース:アントシアニン(フラボノイド)5-0-グルコシルトランスフェラーゼ(以下5GT)、マロニル基転移酵素遺伝子のみである。

このうち、フラボノイド-3'-ヒドロキシラーゼはチトクロームP450遺伝子のファミリーに属することが知られており(Plant Cell, 7、1071-1083, 1995)チトクロームP450遺伝子は互いに構造的な相同性を示すことが推察される。

一般に、フラボノイド分子の3位の水酸基はグルコースによって 修飾されているが、グルコシル化をはじめとした糖による修飾は、 アントシアニンの安定性と溶解性を増大させると考えられている(The Flavonoids, Chapman & Hall, 1994)。

この反応を触媒するUDPーグルコース:アントシアニジンあるいはフラボノイド3ーグルコシルトランスフェラーゼ(以下3GT)をコードする遺伝子はトウモロコシ、大麦、金魚草、リンドウなどの多くの植物から得られており、アミノ酸配列はお互いに有意の相同性を示す。たとえば、単子葉植物のトウモロコシと双子葉植物のトウモロコシとオオムギの3GTのアミノ酸配列の相同性は73%、双子葉植物のリンドウとナスの3GTでは46%である。

また、ペチュニアのUDP-ラムノース:アントシアニジン3ー グルコシドラムノシルトランスフェラーゼ (3RT) をコードする 遺伝子もクローニングされている。

ところが、多くの植物のフラボノイドの5位の水酸基がグルコシ ル化されているのにも関わらず、この反応を触媒する酵素(5GT)の遺伝子は未だに得られていない。

また、ペチュニアやストックのアントシアニンの5位に糖を転移する反応を測定した例はある(Planta 160,341-347,1984、Planta,168,586-591,1986)が、これらの報告は花弁の粗抽出液か部分精製したものを用いて、酵素学的性質を調べたに留まっており、この酵素を純粋な形にまで精製した例はない。また、一般に糖転移酵素は生化学的に不安定であり、酵素の精製は困難である。

フラボノイド分子に糖が付加されることによるその色調の変化はほとんどないが、色調に大きな影響を与える芳香族アシル基はアントシアニン内のグルコース分子やラムノース分子に転移するため、糖転移反応を制御することはアントシアニンの生合成を制御し、ひいては花の色を制御する上で重要である。なお糖転移酵素遺伝子の発現を調節して花の色を変えた例として、ペチュニアの3RTによる反応を形質転換ペチュニアにおいて制御し、花の色を修飾した例がある。

形質転換可能な植物としては、例えばバラ、キク、カーネーション、ガーベラ、ペチュニア、トレニア、トルコギキョウ、カランコエ、チューリップ、グラジオラスなどが知られている。

発明の開示

そこで、本発明者らは、フラボノイドの5位に糖を転移する活性 を有する蛋白質をコードする遺伝子を得ることを課題とし、本発明 を完成した。

例えばキクのアントシアニン並びにバラおよびカーネーションの アントシアニンの一部は5位の水酸基がグルコシル化されていない

。本発明で得られた 5 G T 遺伝子をこれらの植物に導入する事により、アントシアニンの構造を変えることができる。

また、国際公開公報;WO96/25500に記載されているアシル基転移酵素遺伝子を用いてフラボノイドをアシル化することにより、花色を変化させることや、フラボノイドを安定化させることが可能であるが、アシル基は直接フラボノイドと結合するのではなく、糖を介して結合するため、アシル基転移酵素遺伝子を導入しただけでは、花色の変化が十分でなかったり、安定化しない場合もある。

しかしながら、アシル基転移酵素遺伝子と同時に5GT遺伝子を 導入することにより、フラボノイドの5位に糖を転移させ、さらに それをアシル化することができ、アントシアニンの構造が変わり、 花の色は青くなることも期待される。

また、アントシアニンの5位がグルコシル化されている植物の5 GT遺伝子の発現をアンチセンス法やコサプレッション法などで抑 制すれば、アントシアニンの生合成を阻害することができ、その結 果花の色を変化させることができる。たとえば、リンドウやトルコ ギキョウで5GT活性を抑制すれば、花の色は赤くなることが期待 される。

本発明者は、遺伝子組換え技術を用いてシソ、トレニア、バーベナおよびペチュニアから5GTのcDNAを単離し、構造遺伝子の塩基配列を決定した。すなわち、これらの植物でアントシアニンの発現している組織に存在する5GTをコードしているDNA配列を提供するものである。さらに、本酵素はアントシアン系色素の5位に糖を転移するため、花色の変化に利用することができ、アントシアニンの安定性を増すことができる。

発明の実施の形態

本発明の酵素をコードするDNAを得るには、例えばディファレンシャルディスプレイ(Differential display)法を用いることができる。例えば、シソ(Perilla frutescens)においては、アントシアニンを蓄積する品種(例えば紫薫)とアントシアニンを蓄積しない品種(例えば青薫)があり、アントシアニンを蓄積する品種には存在するがアントシアニンを蓄積しない品種には存在しないDNAをクローニングすれば、本発明の酵素をコードするDNAが得られる可能性がある。

より具体的には、紫薫の葉及び青薫の葉からRNAを抽出し、常法に従ってcDNAを合成し、これを電気泳動により分離し、紫薫由来のcDNAライブラリー中に存在し、青薫由来のcDNAライブラリー中には存在しないcDNAを単離する。次にこうして得られたcDNAをプローブとして用いて、紫薫由来のcDNAライブラリーをスクリーニングし、本発明の酵素をコードするDNAを得る。

上記のようにして本発明の酵素をコードする c D N A が得られれば、この c D N A 又はその断片をプローブとして用いて、他の植物からの c D N A ライブラリーをスクリーニングすることにより、その植物由来の本発明の酵素をコードする D N A を得ることができる

本発明においては、上記のスクリーニングの例として、ディファレンシャルディスプレーによりシソ由来の本発明の酵素をコードするDNAをクローニングし(実施例1)、次にこうして得られたDNAをプローブとしてバーベナ(Verbena hybrida)からのcDNAをスクリーニングすることによりバーベナ由来の本発明の酵素をコードするDNAを得(実施例2)、さらに同様に

してトレニア由来の本発明の酵素をコードするDNAを得た(実施例3)。

そして、これらのDNAが、本発明の酵素の活性を有する蛋白質を発現することを確認した。

さらに、ペチュニア由来の本発明の酵素をコードするDNAを得た(実施例 4)。

本発明のDNAとしては、例えば配列番号:7~10又は12のいずれかに記載するアミノ酸配列をコードするものが挙げられる。しかしながら、複数個のアミノ酸の付加、欠失及び/又は他のアミノ酸による置換により修飾されたアミノ酸配列を有する蛋白質も、もとの蛋白質と同様の酵素活性を維持することが知られている。従って本発明は、配列番号:7~10又は12のいずれかに記載のアミノ酸配列に対して1個又は複数個のアミノ酸の付加、欠失及び/又は他のアミノ酸により置換されている修飾されたアミノ酸配列を有し、なお、フラボノイドの5位に糖を転移する活性を維持している蛋白質をコードする遺伝子も本発明に属する。

本発明はまた、配列番号:1~4又は6のいずれかに記載の塩基配列もしくはそこに記載のアミノ酸配列をコードする塩基配列又はそれらの部分、例えばコンセンサス領域の6個以上のアミノ酸をコードする部分に対して、例えば2ないし5×SSC、例えば5×SSC、例えば5×SSC、50℃の条件下でハイブリダイズし、且つフラボノイドの5位に糖を転移する活性を有する蛋白質をコードする遺伝子に関する。なお、最適なハイブリダイゼーション温度は塩基配列やその長さにより異り、塩基配列が短くなるに従ってハイブリダイゼーション温度は低くするのが好ましく、例えばアミノ酸6個をコードする塩基配列(18塩基)の場合は、50℃以下の温度が好ましい。

このようなハイブリダイゼーションにより選択される遺伝子とし

ては、天然由来のもの、例えば植物由来のもの、例えば、バーベナやトレニア由来の遺伝子が挙げられるが、他の植物、例えばペチュニア、バラ、カーネーション、ヒアシンス等由来の遺伝子であってもよい。また、ハイブリダイゼーションにより選択される遺伝子は、cDNAであってもよく、ゲノムDNAであってもよい。

本発明はさらに、配列番号: 7~10又は12のいずれかに記載のアミノ酸配列に対して30%以上、好ましくは50%以上、例えば60%又は70%以上、場合によっては90%以上の相同性を有するアミノ酸配列を有し、且つフラボノイドの5位に糖を転移する活性を有する蛋白質をコードする遺伝子に関する。すなわち、実施例に示すごとく、本発明の酵素をコードするDNAは他の糖転移酵素遺伝子と比較して20~30%の相同性を示す。従って、本発明は、配列番号: 7~10又は12に記載のアミノ酸配列と30%以上の相同性を示し、且つ糖転移活性を有する蛋白質をコードする遺伝子を含む。

また、実施例1~4の結果の比較から明らかな通り、本発明の酵素のアミノ酸配列は種によって異り、種間の相同性は50%以上(実施例3及び4参照のこと)、例えば60~70%(実施例2参照のこと)であり、さらに同一種由来の酵素のアミノ酸配列の相同性は90%以上(実施例1参照のこと)である。従って本発明は、配列番号:7~10又は12に記載のアミノ酸配列に対して、50%以上、例えば60~70%以上、場合によってはさらに90%以上の相同性を有するアミノ酸配列を有し、且つ本発明の糖転移酵素活性を維持している蛋白質をコードする遺伝子も本発明の範囲である

生来の塩基配列を有するDNAは、実施例に具体的に記載するように、例えば c DNAライブラリーのスクリーニングにより得られ

る。

また、修飾されたアミノ酸配列を有する酵素をコードするDNAは、生来の塩基配列を有するDNAを基礎にして、常用の部位特定変異誘発やPCR法を用いて合成することができる。例えば、修飾を導入したい部位を含むDNA断片を、上記により得られたcDNA又はゲノミックDNAの制限酵素消化により得、これを鋳型にして、所望の変異を導入したプライマーを用いて部位特定変異誘発又はPCR法を実施し、所望の修飾を導入したDNA断片を得、これを、目的とする酵素の他の部分をコードするDNAに連結すればよい。

あるいはまた、短縮されたアミノ酸配列を有する酵素をコードするDNAを得るには、例えば目的とするアミノ酸配列より長いアミノ酸配列、例えば全長アミノ酸配列をコードするDNAを、所望の制限酵素により切断し、得られたDNA断片が目的とするアミノ酸配列の全体をコードしていない場合には、不足部分を合成DNAを連結することにより補えばよい。

また、このクローンを大腸菌及び酵母での遺伝子発現系を用いて発現させ、酵素活性を測定することにより、得られた遺伝子が糖転移酵素をコードしていることを確認し、フラボノイドの5位に糖を転移する糖転移酵素遺伝子の翻訳領域を明らかにすることにより本発明に係る糖転移酵素をコードする遺伝子が得られ、更に、当該遺伝子を発現させることにより遺伝子産物である目的のフラボノイドの5位に糖を転移する糖転移酵素蛋白質を得ることができる。

あるいはまた、配列番号 7~10又は12のいずれかに記載のアミノ酸配列に対する抗体を用いても、前記蛋白質を得ることができる。

従って本発明はまた、前記のDNAを含んでなる組換えベクター

、特に発現ベクター、及び該ベクターにより形質転換された宿主に関する。宿主としては、原核生物又は真核生物を用いることができる。原核生物としては、細菌、例えばエシェリヒア(Escherichia)属に属する細菌、例えば大腸菌(Escherichia coli)、バシルス(Bacillus)属微生物、例えばバシルス・ズブチリス(Bacillus subtilis)、等常用の宿主を用いることができる。

真核性宿主としては、下等真核生物、例えば真核性微生物、例えば は真菌である酵母又は糸状菌が使用できる。酵母としては、例えば サッカロミセス・セレビシエ(Saccharomyces ce revisiae)等が挙げられ、また糸状菌としてはアスペルギルス(Aspergillus)属微生物、例えばアスペルギルス・オリゼ(Aspergillus oryzae)、アスペルギルス・オリゼ(Aspergillus niger)、ペニシリウム(Penicillium)属微生物等が挙げられる。さらに、動物細胞又は植物細胞が使用でき、動物細胞としては、マウス、ハムスター、サル、ヒト等の細胞系が使用される。さらに、昆虫細胞、例えばカイコの細胞、又はカイコの成虫それ自体も宿主として使用される。

本発明の発現ベクターは、それらを導入すべき宿主の種類に依存して発現制御領域、例えばプロモーター及びターミネーター、複製起点等を含有する。細菌用発現ベクターのプロモーターとしては、常用のプロモーター、例えば trcプロモーター、tacプロモーター、lacプロモーター等が使用され、酵母用プロモーターとしては、例えばグリセロアルデヒド3リン酸デヒドロゲナーゼプロモーター、PH05プロモーター等が使用され、糸状菌用プロモーター

ーとしては例えばアミラーゼ、trp C等が使用される。また、動物細胞宿主用プロモーターとしてはウイルス性プロモーター、例えばSV40アーリープロモーター、SV40レートプロモーター等が使用される。

発現ベクターの作製は、制限酵素、リガーゼ等を用いて常法に従って行うことができる。また、発現ベクターによる宿主の形質転換も、常法に従って行うことができる。

前記蛋白質の製造方法においては、前記の発現ベクターにより形質転換された宿主を培養、栽培又は飼育し、培養物等から常法に従って、例えば、濾過、遠心分離、細胞の破砕、ゲル濾過クロマトグラフィー、イオン交換クロマトグラフィー等により目的とする蛋白質を回収、精製することができる。

なお、本明細書においてはシソ、バーベナ、トレニアおよびペチュニア由来の、フラボノイドの5位に糖を転移する糖転移酵素(本発明において、単に「糖転移酵素」と言う場合がある)について述べているが、当該酵素の精製法をそのまま又は一部を改変して、他の植物の糖転移酵素を精製し、当該酵素に係るアミノ酸配列を決定することにより、当該酵素をコードする遺伝子をクローニングすることができる。更に、本発明に係るシソ由来の糖転移酵素のcDNAをプローブとして用いることにより、シソから別の糖転移酵素のcDNA、他の植物から別の糖転移酵素のcDNAを得ることができる。従って、糖転移酵素の遺伝子の一部または全部を用いると、他の糖転移酵素遺伝子を得ることができる。

また、本明細書において示したように、シソ、バーベナ、トレニアおよびペチュニア由来の糖転移酵素を精製し、常法に従って当該酵素に対する抗体を得ることにより、その抗体と反応する蛋白質を作る c D N A 又は染色体 D N A をクローニングすることができる。

従って、本発明はシソ、バーベナ、トレニアおよびペチュニア由来 の糖転移酵素の遺伝子のみに限定されるものではなく、広く糖転移 酵素に関するものである。

さらに本発明は、糖転移酵素の遺伝子を導入することにより、色 が調節された植物もしくはその子孫又はそれらの組織に関するもの であり、その形態は切花であってもよい。

また、本明細書においてはアントシアンを含むフラボノイドの糖転移反応において、糖の供与体としてUDP-グルコースが挙げられる。

実施例

以下に本発明を実施例に基づいて詳細に説明する。実験の手順は特に記述しない限りMolecular Cloning (Cold Spring Harbor、1989)、新生物化学実験のてびき第3巻(化学同人1996)、国際公開公報;WO96/25500に記載の方法に従った。

実施例1. 赤ジソで特異的に発現している遺伝子のクローニング(1) ディファレンシャルディスプレイ

シソ(Perilla frutescens)には、葉にアントシアニンを蓄積する品種(例えば紫薫(サカタのタネ))とアントシアニンを蓄積しない品種(例えば、青薫(サカタのタネ))があり、主要なアントシアニンの構造はマロニルシソニン(3-0-(6-0-(p-クマロイル)- β -D-グルコシル)-5-0-(6-0-マロニル- β -D-グルコシル)-シアニジン)であることが報告されている(Agri. Biol. Chem. 53:197-198, 1989)。

ディファレンシャルディスプレイは、Science 257, 967-971 (19 92) に報告された方法で、組織特異的に発現する遺伝子を得る事などに用いられている。

上記 2 種のシソの葉からホットフェノール法(Plant Molecular Biology Manual, Kluwer Academic Publishers 1994 pp. D5/1-13)により全RNAを抽出した。得られた全RNAからmRNAセパレーターキット(Clonetech 社)を用いてポリA+RNAを精製した。0.9 μg のポリA+RNAをアンカーを付加したオリゴdTプライマー(GenHunter 社のH-T11G、H-T11A、H-T11C)を用いて反応液33μ1で、逆転写し、一本鎖cDNAを得た。このcDNAを鋳型にし、同じアンカーを付加したオリゴdTプライマーと合成プライマー(GenHunter 社のH-AP1 から8)をプライマーとし、PCRを行った。

P C R の反応液の体積は20 μ 1 で、2 μ 1 の c D N A 溶液、0.2 μ M の H-T11G、H-T11A、H-T11Cのいずれかのプライマー、0.2 μ M の H-AP1 から8 のいずれかのプライマー、0.12 μ M dNTP、5 あるいは10 μ Ciの[32P]dCTP、10 mM Tris-HC1(pH9.0)、50 mM KC1、0.01% Triton X-100、1.25 mM MgC1 $_{2}$ 、1 ユニットのTaq ポリメラーゼを含んでいた。反応条件は、以下の通り。72℃で20秒間保持した後、94℃30秒、40℃2 分、72℃30秒を1 サイクルとした反応を4 0 サイクル繰り返し、72℃で5 分間保持した。

以上のようにして増幅したDNA断片をDNA塩基配列を決定する際のポリアクリルアミドゲル電気泳動で分離した。ゲルを乾燥後、X線フィルムに露光した。得られたバンド約2,600 のうち、2種の品種のシソを比べ、紫薫でのみみられたバンドは36本であった。これらを乾燥したゲルから切り出し、100 μl の水に溶出した。溶出したDNAをエタノール沈殿し、20μl の水に溶解した。この内半分量のDNAを鋳型にし、上記に述べたPCR反応をそれぞれ行い、33種のバンドについてDNA断片を増幅できた。このDNA断片を用いて、ライブラリーのスクリーニングとノザン解析を行

った。

(2) ノザン解析

以上の33種のDNAプローブを用いて以下の方法でノザン解析を行った。紫薫と青薫由来のポリA+RNAを1.2%アガロースを含むホルマリンゲルで分離後、ナイロン膜に転写した。この膜を5XSSPE、5Xデンハルト液、0.5% SDS、20μg/mlの変性鮭DNA存在下で 65℃で一晩、³²P で標識した上記DNAプローブとハイブリダイズさせた。ハイブリダイズした膜を1XSSPE、0.1%SDS 溶液中で、65℃で洗浄し、オートラジオグラフィーを得た。その結果、5種のプローブのみが紫薫で特異的に発現していた。これらのクローンはアントシアニンの生合成に関わる遺伝子であることが予想される

(3) cDNAライブラリーのスクリーニング

紫薫の葉から得たポリA+RNAを用い、コンプリートラピッドクローニングシステムλgt10(アマーシャム社)を用いてλgt10をベクターとする c DNAライブラリーを作製した。この c DNAライブラリーを先に述べた 5 種のDNA断片を用いてスクリーニングし、それぞれに対応する c DNAを得た。このうち、3R5と名付けたクローンは、H-T11AとH-AP3のプライマーに由来するDNA断片を用いて、得られたもので、すでに報告されているトウモロコシのフラボノイド-3-0-糖転移酵素にアミノ酸レベルで約26%のホモロジーを示した。

また、同じプローブを用いたライブラリーのスクリーニングで3 R4および3R6としたクローンが得られ、これらは3R5と非常 に高いホモロジーを示した。3R4および3R6の全塩基配列と推 定アミノ酸配列をそれぞれ配列表・配列番号1と配列番号2に示し た。また3R4と3R6にコードされるタンパク質の推定アミノ酸

配列は92%の相同性を示した。

8 R 6 と名付けたクローンは、H-T11GとH-AP8 のプライマーに由来するDNA断片を用いて、得られたもので、今までに報告されているDNA塩基配列とは有意のホモロジーを示さなかった。この配列を配列表・配列番号 5 に示した。 8 R 6 は、アントシアニンの生合成に関わる遺伝子である可能性が強いが、その構造が今までに報告されている遺伝子と相同性がないことから、アントシアニン生合成に関わる新規遺伝子であることが予想される。

シソのアントシアニン(前述のマロニルシソニン)の構造を考慮 すれば、本遺伝子はマロニル基転移酵素であることが予想される。 これを証明するには、この遺伝子を酵母や大腸菌で発現させ、アントシアニンとマロニルCoAを基質として反応させればよい。このような実験は、例えば国際公開公報:W〇96/25500に記載してある方法を用いて行うことができる。マロニル基転移酵素遺伝子もアントシアニンの構造を人為的に改変する上で、有用である。

(4) 酵母における3R4のcDNAの発現

p3R4のBstXI 切断部位をT4DNAポリメラーゼ(宝酒造)を用いて平滑化し、さらにアダプター内のBamHI 切断部位で切り出して得られる約1.5kb のDNA断片と、pYE22mのBcoRI 切断末端を平滑化し、さらにBamHI 消化して得られる約8kbのDNA断片を連結して得られるプラスミドをpY3R4とした。

なお、pYE22mを有する大腸菌JM109株は、Escherichia coli SBM335と命名し、FERM BP-5435として工業技術院生命工学工業技術研究所に寄託されている。pY3R4において、糖転移酵素をコードしているcDNAは、酵母の構成的なプロモーターのひとつであるグリセロアルデヒド3リン酸脱水素酵素のプロモーターの下流に連結されており、同プロモーターによ

り転写が制御されている。

p Y 3 R 4 を用いて、酵母サッカロミセス・セレビシエー(Sacc haromyces cerevisiae) G1315 (Ashikari et al. 、Appl. Microbiol. Biotechnol. 30, 515-520, 1989)を伊藤らの方法(Ito et a l. J. Bacteriol., 153, 163-168, 1983)で形質転換した。形質転換された酵母はトリプトファンの合成能の回復により選択した。得られた形質転換株を10mlの、1%カザミノ酸(Difco 社)を含むバークホルダー培地(Burkholder, Amer. J. Bot. 30, 206-210)にて、30℃で24時間振盪培養した。

併せて、対照実験のために、トリプトファンの合成能を自然に回復した酵母も同様に培養した。これらを集菌後、懸濁バッファー(100~mM~UDP リン酸バッファー(100~mM~UDP ルカプトエタノール、 $10~\text{\mu}~\text{M}~\text{APMSF}$ 、 $100~\text{\mu}~\text{M}~\text{UDP}$ ルコース)に懸濁し、グラスビーズ(100~Glass~Beads 425-600microns Acid-Wash、シグマ社)を加えて激しく振盪することにより磨砕した。これを15000~rpm、100~Glass~Meas の分遠心した上清を粗酵素液とし、以下の酵素活性測定に用いた

(5)酵素活性の測定

粗酵素液 20 μ 1 を含む50 μ 1 反応液(100 mM リン酸バッファー(pH 8.5)、670 μ M シアニジンー3 ーグルコシド、1 mM UDP-グルコース)を 3 0 \mathbb{C} 、1 0 分反応させた後、0.1% TFAを含む50% アセトニトリル溶液50 μ 1 を添加し反応を停止させた。 15,00 0rpm、5 分遠心した上清をサンプレップ LCR4(T)-LC (ミリポア社)を通して不溶物を除いた。これを液体高速クロマトグラフィー(HPLC)で分析した。分析は逆相カラム(Asahipak ODP-50,4.6mm ϕ *250mm 昭和電工株式会社製)を用い移動相はA溶液は0.5% TFA/H $_2$ 0、B溶液は0.5% TFA 50%CH $_3$ CN 、流速は0.6 m1/min. で B20% →

B100 % (20min)の後B100% 5min保持のグラジエントで溶出した。

分析には反応溶液20μ1を供した。検出にはA520 nm, AUFS 0.5(島津SPD-10A)とフォトダイオードアレイ検出器(島津SPD-M6A)による600-250 nmの吸収を用いた。 p Y 3 R 4 を発現させた酵母の粗酵素液を反応させたものでは、基質シアニジン-3 ーグルコシド(展開時間17分)に加え、14.5分に展開される新たな物質が生成した。これは対照実験の酵母の粗酵素液を反応させたものでは見られないことから、 p Y 3 R 4 に由来するタンパク質の活性によって生じたものと考えられる。シアニジン-3,5 ージグルコシドとのコクロマトグラフィーの結果、この反応生成物の展開時間はシアニジンー3,5 ージグルコシドのものと一致し、また両者の吸収スペクトルも一致した。以上のことから、シソの3 R 4 の c D N A は 5 G T をコードすることがわかった。

実施例 2. バーベナ(Verbena hybrida) の 5 G T 遺伝子のクローニング

(1) c D N A ライブラリーの作製

バーベナ品種花手鞠バイオレット(サントリー)から花弁を集め、液体窒素中で乳鉢で磨砕した。この磨砕物から、グアニジンチオシアネート/塩化セシウムを用いる方法によりRNAを抽出し、オリゴテックス(宝酒造)を用いて製造者が推奨する方法にて ポリA+RNAを得た。グアニジンチオシアネート/塩化セシウムを用いる方法は、R. McGookin、Robert J. Slater らの、Methods in Molecular Biology vol 2、(Humana Press Inc. 1984) に詳細に示されている方法に従った。

得られたポリA+RNAを鋳型とし、ストラタジーン社のZAP-cD NA合成キットを用いて 2 本鎖 c D N A を合成し、さらにUni-ZAP XR クローニングキット(ストラタジーン社)を用いて、製造者の推奨

する方法でcDNAライブラリーを作製した。

(2) 5 G T の c D N A の クローニング

上記のようにして得られた λ ファージライブラリーをシソの p 3 R 4 の c D N A をプローブとして以下のようにしてスクリーニングした。フィルターをハイブリダイゼーションバッファー(5 χ SSC, 30 χ ホルムアミド、50 mM リン酸ナトリウムバッファー(pH 7.0)、1 χ SDS、2 χ Blocking reagent (ベーリンガー社)、0.1 χ ラウロイルサルコシン、80 χ g/ml サケ精子 D N A)中で42 χ で 1 時間保持した。D I G 標識したシソの 5 G T 遺伝子、 χ 3 R 4 の D N A 断片を、ハイブリダイゼーション液中に加え、さらに 1 6 時間のインキュベーションを行った。

洗浄液(5 X SSC 50℃、1% SDS)でフィルターを洗浄した後、アルカリホスファターゼで標識されたDIG特異的な抗体による酵素免疫測定法(ベーリンガー社)によって、5- ブロモ 4- クロロ 3- インドリルリン酸とニトロブルーテトラゾリウム塩の発色反応でプローブがハイブリダイズしたクローンを検出した。検出方法は使用説明書に従った。

この結果、7個の陽性クローンが得られた。ストラタジーン社の 推奨する方法で、これらcDNAをプラスミドpBluescript SK上に 回収した。アガロースゲル電気泳動でcDNAの長さを調べたとこ ろ、最長 2.0 kb の挿入が認められた。

(3) 塩基配列の決定

得られたクローンからプラスミドを抽出し、シークエンサー ABI 373A (パーキンエルマー社)を用い、同社の推奨する蛍光試薬によるダイデオキシ シークエンス法で、cDNAの 3' および 5' 末端付近側の塩基配列を決定した。その結果、これら7クローンのうち5個のクローンは、互いに同じ塩基配列を持っており、cDNA

の長さが異なるものと考えられた。このうちpSHGT8の全塩基配列を決定した。塩基配列の決定は、Kilo-Sequence 用deletionキット(宝酒造)を用いて、一連の欠失クローンを得るか、もしくはpSHGT8の内部配列に特異的なオリゴプライマーを用いて、上述のように行った。

(4) 塩基配列とアミノ酸配列の比較

p S H G T 8 に挿入された c D N A は 2 0 6 2 b p でありその中に 1 3 8 6 b p (終止コドンを含む)からなるオープンリーディングフレーム (O R F)が見い出された。この配列を配列番号 3 に示す。この O R F の アミノ酸配列は、シソの p 3 R 4 にコードされる 5 G T の アミノ酸配列と 6 8 %、 p 3 R 6 にコードされるものとは 6 4 % の相同性を示した。また、単子葉植物及び双子葉植物の 3 G T とは 2 2 ~ 2 5 %、ペチュニアの 3 R T とは 2 1 % の相同性を示した。

(5)酵母における発現と酵素活性の測定

pSHGT8をBamHI/Xholで消化して得られる約2.0 kb のDNA断片とpYE22mをBamHI/Sallで消化して得られる約8 kbのDNA断片を連結して得られるプラスミドをpYHGT8とした。実施例1同様にして、酵母菌体内でpYHGT8を発現し、pSHGT8によってコードされるタンパク質の酵素活性について測定した。その結果、pYHGT8を導入した酵母の粗酵素液を反応させたものでは、シアニジン-3,5-ジグルコシドと展開時間、スペクトル共に一致する生成物ができた。このことから、バーベナのpSHGT8のcDNAは5GTをコードすることがわかった。

実施例3. トレニアの5GT遺伝子のクローニング

(1) c D N A ライブラリーの作製

トレニア品種サマーウェーブブルー(サントリー(株))から花

弁を集め、液体窒素中で乳鉢で磨砕した。この磨砕物から、グアニジンチオシアネート/塩化セシウムを用いる方法によりRNA を抽出し、オリゴテックス(宝酒造(株))を用いて製造者が推奨する方法にてポリA+RNAを得た。グアニジンチオシアネート/塩化セシウムを用いる方法は、R. McGookin, Robert J. Slater らの、Methods in Molecular Biology vol 2, (Humana Press Inc. 1984) に詳細に示されている方法に従った。

得られたポリA+RNAを鋳型とし、ストラタジーン社のZAP-cDNA合成キットを用いて2本鎖cDNAを合成し、さらにUni-ZAPXRクローニングキット(ストラタジーン社)を用いて、製造者の推奨する方法でcDNAライブラリーを作製した。

(2) 5 G T の c D N A の クローニング

上記のようにして得られた λ ファージライブラリーをシソの p 3 R 4 の c D N A をプローブとして実施例 2 と同様にしてスクリーニングした。この結果 8 個の陽性クローンが得られた。 c D N A をプラスミド pB lues cript SK上に回収したのち、アガロースゲル電気泳動で c D N A の長さを調べたところ、最長 1.6 kb の挿入が認められた。

(3) 塩基配列の決定

得られたクローンからプラスミドを抽出し、実施例2と同様にして両末端付近の塩基配列を決定した。その結果、これらのクローンのうち6個は互いに同じ塩基配列を持っており、cDNAの長さが異なるものと考えられた。この6クローンのうちpSTGT5の全塩基配列を決定した。

(4) 塩基配列とアミノ酸配列の比較

pSTGT5に挿入されたcDNAは1671bpでありその中 に1437bp (終止コドンを含む) からなるオープンリーディン

グフレーム(ORF)が見い出された。この配列を配列番号4に示す。このORFのアミノ酸配列は、シソのp3R4にコードされる5GTのアミノ酸配列と58%、p3R6にコードされるものとは57%、バーベナのpSHGT8にコードされるものとは57%の相同性を示した。また、単子葉植物及び双子葉植物の3GTとは19~23%、ペチュニアの3RTとは20%の相同性を示した。

(5)酵母における5GT遺伝子の発現

pSTGT5をSmal/KpnIで消化して得られる約 1.6 kb のDNA断片と、pYE22mのBcoRI切断を平滑化し、さらにKpnI消化して得られる約8kbのDNA断片を連結して得られるプラスミドをpYTGT5とした。実施例1と同様にして、酵母菌体内でpYTGT5を発現し、pSTGT5にコードされるタンパク質の酵素活性について測定した。その結果、pYTGT5を導入した酵母の粗酵素液を反応させたものでは、シアニジンー3,5 ージグルコシドと展開時間、スペクトル共に一致する生成物が得られた。このことから、トレニアのpSTGT5のcDNAは5GTをコードすることがわかった。

実施例 4. ペチュニアの 5 G T 遺伝子のクローニング

(1) c D N A ライブラリーの作製

ペチュニア品種Old Glory Blue の花弁より抽出したRNAをもとに、T. Holton らの報告 (Plant Journal, 1993 4: 1003-1010) に詳細に記されているようにして、cDNAライブラリーを作製した。

(2) 5 G T の c D N A の クローニング

前述のようにして得られたシソ、トレニア、バーベナの 5 G T c D N A をプローブとして実施例 2 と同様にしてスクリーニングした。この結果、得られた陽性クローンのうち 4 個をプラスミドpBlues

cript SK- 上に回収した。アガロース電気泳動で c D N A の長さを 調べたところ、最長2.0kb の c D N A が認められた。

(3) 塩基配列の決定

て5、末端付近の塩基配列を決定した。その結果これらのクローンのうち2つ、pSPGT1は、これまで得られているシソ、トレニア、バーベナの5GTと高い相同性を示すアミノ酸配列をコードすることが明らかとなった。そこでpSPGT1の全塩基配列を決定した。

(4) 塩基配列とアミノ酸配列の比較

pSPGT1に挿入されたcDNAは2105bpであり、その中に1407bp(終始コドンを含む)からなるORFが見出された。この配列を配列番号6に示す。このORFのアミノ酸配列はシソのp3R4にコードされる5GTのアミノ酸配列と57%、p3R6にコードされるアミノ酸配列と54%、バーベナのpSHGT8にコードされるものとは55%、トレニアのpTGT5にコードされるものとは51%の相同性を示した。また単子葉植物、双子葉植物の3GTとは20~29%、ペチュニアの3RTとは20%の相同性を示した。このことから、ペチュニアから得られたpSPGT1のcDNAは5GTをコードすると考えられる。

産業上の利用可能性

以上のようにシソ、バーベナ、トレニアおよびペチュニア由来のフラボノイドの5位に糖を転移する酵素をコードするcDNAのクローニングと塩基配列の決定を行った。また、酵母での活性発現を行うことにより、分離したcDNAが5GTをコードすることを明らかにした。このcDNAを適当な植物発現ベクターに接続し、植物に導入し、5GTの活性を付与したり、増加させたり、減少させ

たりすることにより植物の花色調節に利用することが可能となった。また、本酵素活性を利用することにより、植物の中であるいは試験管内でアントシアンの構造を改変し、より安定なアントシアンを合成することができる。

配列

配列:1

配列の長さ:1507

配列の型:核酸

鎖の数:二本鎖

トポロジー:直鎖状

起源

生物名: シソ (Perilla frutescens)

組織の種類:葉

直接の起源

ライブラリー名: cDNA library

クローン名: p 3 R 4

配列

GAAAATTTCC ACAAAA ATG GTC CGC CGC CGC GTG CTG CTA GCA ACG TTT 49

Met Val Arg Arg Arg Val Leu Leu Ala Thr Phe

1 5 10

CCT GCG CAA GGC CAC ATA AAT CCC GCC CTC CAA TTC GCC AAG AGA CTC 97
Pro Ala Gln Gly His Ile Asn Pro Ala Leu Gln Phe Ala Lys Arg Leu

15 20 25

CTA AAA GCC GGC ACT GAC GTC ACA TTT TTC ACG AGC GTT TAT GCA TGG 145
Leu Lys Ala Gly Thr Asp Val Thr Phe Phe Thr Ser Val Tyr Ala Trp

30 35 40

CGC CGC ATG GCC AAC ACA GCC TCC GCC GCT GCC GGA AAC CCA CCG GGC

193

Arg Arg Met Ala Asn Thr Ala Ser Ala Ala Ala Gly Asn Pro Pro Gly

45 50 55

СТС	GAC	TTC	GTG	GCG	TTC	TCC	GAC	GGC	TAC	GAC	GAC	GGG	CTG	AAG	CCC	241
Leu	Asp	Phe	Val	Ala	Phe	Ser	Asp	Gly	Tyr	Asp	Asp	Gly	Leu	Lys	Pro	
60					65					70					75	
rgc	GGC	GAC	GGG	AAG	CGC	TAC	ATG	TCC	GAG	ATG	AAA	GCC	CGC	GGC	TCC	289
Cys	Gly	Asp	Gly	Lys	Arg	Tyr	Met	Ser	Glu	Met	Lys	Ala	Arg	Gly	Ser	
				80					85					90		
GAG	GCC	TTA	AGA	AAC	CTC	CTT	CTC	AAC	AAC	CAC	GAC	GTC	ACG	TTC	GTC	337
Glu	Ala	Leu	Arg	Asn	Leu	Leu	Leu	Asn	Asn	His	Asp	Val	Thr	Phe	Val	
			95					100					105			
GTC	TAC	TCC	CAC	CTC	TTT	GCA	TGG	GCG	GCG	GAG	GTG	GCG	CGT	GAG	TCC	385
Val	Tyr	Ser	His	Leu	Phe	Ala	Trp	Ala	Ala	Glu	Val	Ala	Arg	Glu	Ser	
		110					115					120				
CAG	GTC	CCG	AGC	GCC	CTT	CTC	TGG	GTC	GAG	CCC	GCC	ACC	GTG	CTG	TGC	433
Gln	Val	Pro	Ser	Ala	Leu	Leu	Trp	Val	Glu	Pro	Ala	Thr	Val	Leu	Cys	
	125					130					135					
ATA	TAT	TAC	TTC	TAC	TTC	AAC	GGC	TAC	GCA	GAC	GAG	ATC	GAC	GCC	GGT	481
He	Tyr	Tyr	Phe	Tyr	Phe	Asn	Gly	Tyr	Ala	Asp	Glu	lle	Asp	Ala	Gly	
140					145					150					155	
															AGT	529
Ser	Asp	Glu	lle			Pro	Arg	Leu			Leu	Glu	G1n		Ser	
				160					165				•	170		
															ATG	577
Leu	Pro	Thr			Leu	Pro	Gli			Glu	ı Arg	Phe			Met	
			175					180					185			
															GTG	625
Met	Lys			Let	Glu	Thr			Gly	/ Glu	ı Glu			ı Lys	· Val	
		190)				193	5				200)			

PCT/JP98/03199

WO 99/05287

wo 9	9/052	287													PCT/J	TP98/03199
TTG	GTG	AAC	ACG	TTT	GAT	GCG	TTG	GAG	CCC	GAT	GCA	СТС	ACG	GCT	ATT	673
Leu	Val	Asn	Thr	Phe	Asp	Ala	Leu	Glu	Pro	Asp	Ala	Leu	Thr	Ala	lle	
	205					210					215					
GAT	AGG	TAT	GAG	TTG	ATC	GGG	ATC	GGG	CCG	TTG	ATT	CCC	TCC	GCC	TTC	721
Asp	Arg	Tyr	Glu	Leu	He	Gly	lle	Gly	Pro	Leu	lle	Pro	Ser	Ala	Phe	
220					225					230					235	
TTG	GAC	GGC	GGA	GAT	CCC	TCC	GAA	ACG	TCT	TAC	GGC	GGC	GAT	CTT	TTC	769
Leu	Asp	Gly	Gly	Asp	Pro	Ser	Glu	Thr	Ser	Tyr	Gly	Gly	Asp	Leu	Phe	
				240					245					250		
GAA	AAA	TCG	GAG	GAG	AAT	AAC	TGC	GTG	GAG	TGG	TTG	GAC	ACG	AAG	CCG	817
Glu	Lys	Ser	Glu	Glu	Asn	Asn	Cys	Val	Glu	Trp	Leu	Asp	Thr	Lys	Pro	
			255					260					265			
AAA	TCT	TCG	GTG	GTG	TAT	GTG	TCG	TTT	GGG	AGC	GTT	TTG	AGG	TTT	CCA	865
Lys	Ser	Ser	Val	Val	Tyr	Val	Ser	Phe	Gly	Ser	Val	Leu	Arg	Phe	Pro	
		270)				275	i				280				
AAG	GCA	CAA	ATG	GAA	GAG	ATT	GGG	AAA	GGG	CTA	TTA	GCC	TGC	GGA	AGG	913
Lys	Ala	Glr	Met	Glu	Glu	lle	Gly	' Lys	Gly	Leu	Leu	Ala	Cys	Gly	Arg	
	285	5				290)				295	•				
CCC	TT	r TT/	A TGC	ATC	ATA	CGA	GA/	A CAC	AAG	raa i	GAC	GAC	GGC	GA/	A GAA	961
Pro) Pho	e Lei	ı Trı	Me	i Ile	e Arg	g Glu	ı Glr	Lys	Asr	ı Asp	Asp	Gly	/ Glu	ı Glu	
300					305					310					315	
															G AAA	1009
Gl	u Gl	u Gl	u Gl	u Lei	ı Sei	r Cy:	s II	e Gly			ı Lys	s Ly:	s Me		y Lys	
				320					325					33		
															G TTG	1057
I 1	e Va	l Se	r Tr	р Су	s Se	r Gl	n Le			l Le	u Ala	a Hi			a Leu	
			33	5				34	0				34	5		

GGA	TGT	TTC	GTG	ACG	CAT	TGT	GGG	TGG	AAC	TCG	GCT	GTG	GAG	AGC	TTG	1105
Gly	Cys	Phe	Val	Thr	His	Cys	Gly	Trp	Asn	Ser	Ala	Val	Glu	Ser	Leu	
		350					355					360				
AGT	TGC	GGG	GTT	CCG	GTG	GTG	GCG	GTG	CCG	CAG	TGG	TTT	GAT	CAG	ACG	1153
Ser	Cys	Gly	Val	Pro	Val	Val	Ala	Val	Pro	Gln	Trp	Phe	Asp	Gln	Thr	
	365					370					375					
ACG	AAT	GCG	AAG	CTG	ATT	GAG	GAT	GCG	TGG	GGG	ACA	GGG	GTG	AGA	GTG	1201
Thr	Asn	Ala	Lys	Leu	He	Glu	Asp	Ala	Trp	Gly	Thr	Gly	Val	Arg	Val	
380					385					390					395	
AGA	ATG	AAT	GAA	GGG	GGT	GGG	GTT	GAT	GGA	TCT	GAG	ATA	GAG	AGG	TGT	1249
Arg	Met	Asn	Glu	Gly	Gly	Gly	Val	Asp	Gly	Ser	Glu	lle	Glu	Arg	Cys	
				400					405					410)	
GTG	GAG	ATG	GTG	ATG	GAT	GGG	GGT	GAG	AAG	AGC	AAA	СТА	GTG	AG/	GAA	1297
Val	Glu	Met	Val	Met	Asp	Gly	Gly	Glu	Lys	Ser	Lys	Leu	Val	Arg	Glu	
			415	i				420					425	i		
AA7	GCC	ATA	AAA	TGG	AAG	ACT	TTG	GCC	AGA	GAA	GCC	ATG	GGA	GAG	GGAT	1345
Asr	n Ala	ı Ile	. Lys	Tr	Lys	Thr	Leu	Ala	Arg	Glu	ı Ala	Met	Gly	/ G1:	ı Asp	
		430)				435	i				440)			
GG/	ч тст	г тся	A CTO	C AAC	G AA1	CTO	C AAC	GCC	TT7	r cti	CA7	Γ CAA	A GT	r gc.	A CGT	1393
G1;	y Sei	r Sei	r Lei	ı Ly:	s Ası	ı Lei	ı Asr	n Ala	. Phe	e Lei	ı His	s Glr	ı Va	l Al	a Arg	
	44	5				450)				45	5				
GC'	г та	ATAC	ACAA	AAT	GGCT	гтс (CACT	ATTA	AT C	ГАСТ	CAAA	C AC	CGGT	TCAA		1446
A1	a															
46	0															
AT.	AAAT	ATCC	CCTT	CCAC"	TT C1	TTCI	TTTA	CAC'	ratc <i>i</i>	ACA T	TTAT	AATT	AT 1	GTAA(CAAA	1506
A																1507
	列:	2														

PCT/JP98/03199

WO 99/05287

配列の長さ:1470

配列の型:核酸

鎖の数:二本鎖

トポロジー:直鎖状

起源

生物名:シソ (Perilla frutescens)

組織の種類:葉

直接の起源

ライブラリー名: cDNA library

クローン名: p 3 R 6

配列

ACCAAACCAA AACAAAATTT CCACAAAA ATG GTC CGC CGC CGC GTG CTG CTA 48

Met Val Arg Arg Val Leu Leu

1

5

GCA ACG TTT CCG GCG CAA GGC CAC ATA AAT CCC GCC CTC CAA TTC GCC

Ala Thr Phe Pro Ala Gln Gly His Ile Asn Pro Ala Leu Gln Phe Ala

10 15 20

AAG AGA CTC CTA AAA GCC GGC ACT GAC GTC ACG TTT TTC ACG AGC GTT 144

Lys Arg Leu Leu Lys Ala Gly Thr Asp Val Thr Phe Phe Thr Ser Val

25 30 35 40

TAT GCA TGG CGC CGC ATG GCC AAC ACA GCC TCC GCC GCT GCC GGA AAC

Tyr Ala Trp Arg Arg Met Ala Asn Thr Ala Ser Ala Ala Ala Gly Asn

45 50 55

CCA CCG GGC CTC GAC TTC GTG GCG TTC TCC GAC GGC TAC GAC GAC GGG 240

Pro Pro Gly Leu Asp Phe Val Ala Phe Ser Asp Gly Tyr Asp Asp Gly

60 65 70

CTG	AAG	CCC	GGC	GGC	GAC	GGG	AAG	CGC	TAC	ATG	TCC	GAG	ATG	AAA	G	CC	288
Leu	Lys	Pro	Gly	Gly	Asp	Gly	Lys	Arg	Tyr	Met	Ser	Glu	Met	Lys	A	la	
		75					80					85					
CGC	GGC	TCC	GAG	GCC	ATT	AGA	AAC	CTC	CTT	CTC	AAC	AAC	GAC	GAC	G'	TC	336
Arg	Gly	Ser	Glu	Ala	Leu	Arg	Asn	Leu	Leu	Leu	Asn	Asn	Asp	Asp	V	al	
	90					95					100						
ACT	TTC	GTC	GTC	TAC	TCC	CAC	CTC	TTT	GCA	TGG	GCG	GCG	GAG	GTG	G	CG	384
Thr	Phe	Val	Val	Tyr	Ser	His	Leu	Phe	Ala	Trp	Ala	Ala	Glu	Val	A	la	
105					110					115					1	.20	
CGT	TTG	TCC	CAC	GTC	CCG	ACC	GCC	CTT	CTC	TGG	GTC	GAG	CCC	GCO	CA	CC	432
Arg	Leu	Ser	His	Val	Pro	Thr	Ala	Leu	Leu	Trp	Val	Glu	Pro	Ala	1 7	(hr	
				125					130					13	5		
GTG	CTG	TGC	ATA C	TAC	CAC	TTC	TAC	TTC	AAC	GGC	TAC	GCA	GAC	GA	G A	ATC	480
Val	Leu	Cys	s Ile	Tyr	His	Phe	Tyr	Phe	Asn	Gly	Tyr	Ala	Asp	Gl	u .	lle	
			140)				145					150)			
GAC	GCC	GG'	т тс	CAAT	GAA	TA A	CAG	CTC	сст	CGG	CTT	CCA	TCO	C CT	G (GAG	528
Asp	Ala	Gl	y Se	r Asr	ı Glu	ı 116	e Glr	ı Leu	Pro	Arg	Leu	Pro	Sei	r Le	u	Glu	
		15	5				160)				165	5				
CAG	G CG	C AG	т ст	т сс	G ACC	G TT	г сто	G CTC	CC1	r GCC	G ACC	CCC	G GA	G AG	A	TTC	576
Gli	n Ar	g Se	r Le	u Pro	o Th	r Ph	e Le	u Lei	ı Pro	o Ala	ı Thi	r Pro	Gl:	u Ar	g	Phe	
	17	0				17	5				180)					
CG	G TT	G AT	G AT	G AA	G GA	G AA	G CT	G GA	A AC	T TT	A GA	C GG	T GA	A GA	\G	AAG	624
Ar	g Le	u Me	t Me	t Ly	s G1	u Ly	s Le	u Gl	u Th	r Le	u As	p Gl	y Gl	u G	u	Lys	
18	5				19	0				19	5					200	
GC	G AA	A GT	rt at	G GT	G AA	C AC	G TT	T GA	T GC	G TT	G GA	G CC	C GA	T G	CA	CTC	672
Al	a Ly	's Va	al Le	eu Va	.l As	n Th	ır Ph	e As	p Al	a Le	u G1	u Pr	o As	р А	la	Leu	
				20	5				21	0				2	15		

PCT/JP98/03199

WO 99/05287

ACG	GCT	ATT	GAT	AGG	TAT	GAG	TTG	ATC	GGG	ATC	GGG	CCG	TTG	ATT	CCC	720
Thr	Ala	He	Asp	Arg	Tyr	Glu	Leu	lle	Gly	He	Gly	Pro	Leu	He	Pro	
			220					225					230			
TCC	GCC	TTC	TTG	GAC	GGC	GAA	GAT	CCC	TCC	GAA	ACG	TCT	TAC	GGC	GGC	768
Ser	Ala	Phe	Leu	Asp	Gly	Glu	Asp	Pro	Ser	Glu	Thr	Ser	Tyr	Gly	Gly	
		235					240					245				
GAT	CTT	TTC	GAA	AAA	TCG	GAG	GAG	AAT	AAC	TGC	GTG	GAG	TGG	TTG	AAC	816
Asp	Leu	Phe	Glu	Lys	Ser	Glu	Glu	Asn	Asn	Cys	Val	Glu	Trp	Leu	Asn	
	250					255					260					
TCG	AAG	CCG	AAA	TCT	TCG	GTG	GTG	TAT	GTG	TCG	TTT	GGG	AGC	GTT	TTG	864
Ser	Lys	Pro	Lys	Ser	Ser	Val	Val	Tyr	Val	Ser	Phe	Gly	Ser	Val	Leu	
265					270					275					280	
AGG	TTT	CCA	AAG	GCA	CAA	ATG	GAA	GAG	ATT	GGG	AAA	GGG	CTA	TTA	GCC	912
Arg	Phe	Pro	Lys	Ala	Gin	Met	Glu	Glu	He	Gly	Lys	Gly	Leu	Leu	Ala	
				285					290					295		
TGC	GGA	AGG	CCC	TTT	TTA	TGG	ATG	ATA	CGA	GAA	CAG	AAG	AAT	GAC	GAC	960
Cys	Gly	Arg	Pro	Phe	Leu	Trp	Met	Ile	Arg	Glu	Gln	Lys	Asn	Asp	Asp	
			300					305					310			
GGC	GAA	GAA	GAA	GAA	GAA	GAA	GAA	GAG	TTG	AGT	TGC	ATT	GGG	GAA	TTG	1008
Gly	Glu	Glu	Glu	Glu	Glu	Glu	Glu	Glu	Leu	Ser	Cys	He	Gly	Glu	Leu	
		315					320)				325				
AAA	AAA	ATG	GGG	AAA	ATA	GTG	TCG	TGG	TGC	TCG	CAG	TTG	GAG	GTT	CTG	1056
Lys	Lys	Met	Gly	Lys	lle	Val	Ser	Trp	Cys	Ser	Gln	Leu	Glu	Val	Leu	
	330	l				335					340					
GCG	CAC	CCT	, GCC	TTG	GGA	TGT	TTC	GTG	ACG	CAT	` TGT	. GGG	TGG	AAC	TCG	1104
Ala	His	Pro	Ala	Leu	Gly	Cys	Phe	Val	Thr	His	Cys	Gly	Trp	Asn	Ser	
345	ı				350)				355	;				360	

PCT/JP98/03199

WO 99/05287

 WO 99/05287
 PCT/JP98/03199

 GCT GTG GAG AGC TTG AGT TGC GGG ATT CCG GTG GTG GCG GTG CCG CAG 1152

 Ala Val Glu Ser Leu Ser Cys Gly Ile Pro Val Val Ala Val Pro Gln

 365
 370

 375

TGG TTT GAT CAG ACG ACG AAT GCG AAG CTG ATT GAG GAT GCG TGG GGG 1200

Trp Phe Asp Gln Thr Thr Asn Ala Lys Leu Ile Glu Asp Ala Trp Gly

380 385 390

ACA GGG GTG AGA GTG AGA ATG AAT GAA GGG GGT GGG GTT GAT GGA TGT 1248

Thr Gly Val Arg Val Arg Met Asn Glu Gly Gly Gly Val Asp Gly Cys

395 400 405

GAG ATA GAA AGG TGT GTG GAG ATG GTG ATG GAT GGG GGT GAC AAG ACC 1296
Glu Ile Glu Arg Cys Val Glu Met Val Met Asp Gly Gly Asp Lys Thr
410 415 420

AAA CTA GTG AGA GAA AAT GCC ATC AAA TGG AAG ACT TTG GCC AGA CAA 1344
Lys Leu Val Arg Glu Asn Ala Ile Lys Trp Lys Thr Leu Ala Arg Gln
425 430 435 440

GCC ATG GGA TAGGATGGAT CTTCACTCAA CAATCTCAAC GCCTTTCTTC 1393
Ala Met Gly

443

GTCAAGTTGC ACACTTTTAA TCTGCTCAAA CAGCGGTTCA AATAAATATC CCCTTCCACT

TAAAAAAAAA AAAAAAA

1470

配列: 3

配列の長さ: 2062

配列の型:核酸

鎖の数:二本鎖

トポロジー:直鎖状

起源

生物名:バーベナ (Verbena hybrida)

組織の種類:花弁

直接の起源

ライブラリー名: cDNA library

クローン名: p S H G T 8

配列

ATTTTACCAA AAAAATAAAA AAAAA ATG AGC AGA GCT CAC GTC CTC TTG GCC

Met Ser Arg Ala His Val Leu Leu Ala

1 5

ACA TTC CCA GCA CAG GGA CAC ATA AAT CCC GCC CTT CAA TTC GCC AAG

Thr Phe Pro Ala Gln Gly His Ile Asn Pro Ala Leu Gln Phe Ala Lys

10 15 20 25

CGT CTC GCA AAT GCC GAC ATT CAA GTC ACA TTC TTC ACC AGC GTC TAC

148

Arg Leu Ala Asn Ala Asp Ile Gln Val Thr Phe Phe Thr Ser Val Tyr

30 35 40

GCA TGG CGC CGC ATG TCC AGA ACC GCC GCT GGC TCA AAC GGG CTC ATC

196

Ala Trp Arg Arg Met Ser Arg Thr Ala Ala Gly Ser Asn Gly Leu Ile

45 50 55

AAT TTT GTG TCG TTT TCC GAC GGG TAT GAC GGG TTA CAG CCC GGA 244

Asn Phe Val Ser Phe Ser Asp Gly Tyr Asp Asp Gly Leu Gln Pro Gly

60 65 70

GAC GAT GGG AAG AAC TAC ATG TCG GAG ATG AAA AGC AGA GGT ATA AAA 292
Asp Asp Gly Lys Asn Tyr Met Ser Glu Met Lys Ser Arg Gly Ile Lys

75 80 85

GCC TTG AGC GAT ACT CTT GCA GCC AAT AAT GTC GAT CAA AAA AGC AGC

Ala Leu Ser Asp Thr Leu Ala Ala Asn Asn Val Asp Gln Lys Ser Ser

90 95 100 105

AAA .	ATC	ACG	TTC	GTG	GTG	TAC	TCC	CAC	CTC	TTT	GCA	TGG	GCG	GCC	AAG	388
Lys	He	Thr	Phe	Val	Val	Tyr	Ser	His	Leu	Phe	Ala	Trp	Ala	Ala	Lys	
				110					115					120		
GTG	GCG	CGT	GAG	TTC	CAT	СТС	CGG	AGC	GCG	CTA	CTC	TGG	ATT	GAG	CCA	436
Val	Ala	Arg	Glu	Phe	His	Leu	Arg	Ser	Ala	Leu	Leu	Trp	lle	Glu	Pro	
			125					130					135			
GCT	ACG	GTG	TTG	GAT	ATA	TTT	TAC	TTT	TAT	TTC	AAC	GGC	TAT	AGC	GAC	484
Ala	Thr	Val	Leu	Asp	Ile	Phe	Tyr	Phe	Tyr	Phe	Asn	Gly	Tyr	Ser	Asp	
		140					145					150				
GAA	ATC	GAT	GCG	GGT	TCG	GAT	GCT	ATT	CAC	TTG	CCC	GGA	GGA	CTC	CCA	532
Glu	He	Asp	Ala	Gly	Ser	Asp	Ala	Ile	His	Leu	Pro	Gly	Gly	Leu	Pro	
	155					160					165					
GTG	CTG	GCC	CAG	CGT	GAT	TTA	CCG	TCT	TTC	CTT	CTT	CCT	TCC	ACG	CAT	580
Val	Leu	Ala	Gln	Arg	Asp	Leu	Pro	Ser	Phe	Leu	Leu	Pro	Ser	Thr	His	
170					175					180					185	
GAG	AGA	TTC	CGT	TCA	CTG	ATG	AAG	GAG	AAA	TTG	GAA	ACT	TTA	GA/	GGT	628
Glu	Arg	Phe	Arg	Ser	Leu	Met	Lys	Glu	Lys	Leu	Glu	Thr	Let	Glu	ı Gly	
				190)				195	i				200)	
GAA	GAA	AAA	CCT	` AAG	GTC	TTG	GTG	AAC	AGC	TTT	GAT	, GCC	TTO	G GAO	CCT	676
Glu	Glu	ı Lys	Pro	Lys	Val	Leu	Val	Asn	Ser	Phe	e Asp	Ala	Let	ı Glı	ı Pro	
			205	i				210)				215	5		
GAT	GCC	CTO	CAAG	GCC	CTA C	GAT	' AAC	TAC	GAC	ATC	G AT1	GC#	AT(C GG	G CCG	724
Asp	Ala	Lei	ı Lys	s Ala	ı Ile	e Asp	Lys	Туг	- Gl ı	ı Met	t Ile	e Ala	111	e Gl	y Pro	
		220)				225	j				230)			
TTG	AT.	r cc	г тс	C GC/	TT(C TTC	GAC	C GGT	ΓΑΑ	A GA	r cca	r TC	G GA	C AG	G TCT	772
Leu	110	e Pr	o Sei	r Ala	a Pho	e Leu	ı Ası	Gly	y Ly:	s As	p Pro	Se:	r As	p Ar	g Ser	
	23	5				240)				24	5				

PCT/JP98/03199

WO 99/05287

WO 99/	WO 99/05287 PCT/JP98/03199 TTC GGC GGA GAT TTG TTC GAG AAA GGG TCG AAT GAC GAC GAT TGC CTC 820															
TTC	GGC	GGA	GAT	TTG	TTC	GAG	AAA	GGG	TCG	AAT	GAC	GAC	GAT	TGC	СТС	820
Phe	Gly	Gly	Asp	Leu	Phe	Glu	Lys	Gly	Ser	Asn	Asp	Asp	Asp	Cys	Leu	
250					255					260					265	
GAA	TGG	TTG	AGC	ACG	AAT	CCT	CGA	TCT	TCG	GTG	GTT	TAC	GTT	TCG	TTC	868
Glu	Trp	Leu	Ser	Thr	Asn	Pro	Arg	Ser	Ser	Val	Val	Tyr	Val	Ser	Phe	
				270					275					280		
GGA	AGC	TTC	GTT	AAT	ACG	ACG	AAG	TCG	CAA	ATG	GAA	GAG	ATA	GCA	AGA	916
G1 y	Ser	Phe	Val	Asn	Thr	Thr	Lys	Ser	Gin	Met	Glu	Glu	He	Ala	Arg	
			285					290					295			
GGG	CTG	TTA	GAT	TGT	GGG	AGG	CCG	TTT	TTG	TGG	GTG	GTA	AGA	GTA	AAC	964
Gly	Leu	Leu	Asp	Cys	Gly	Arg	Pro	Phe	Leu	Trp	Val	Val	Arg	Val	Asn	
		300					305					310				
GAA	GGA	GAA	GAG	GTA	TTG	ATA	AGT	TGC	ATG	GAG	GAG	TTG	AAA	CGA	GTG	1012
Glu	Gly	Glu	Glu	Val	Leu	Ile	Ser	Cys	Met	Glu	Glu	Leu	Lys	Arg	Val	
	315					320					325					
GGG	AAA	ATT	GTA	TCT	TGG	TGT	TCT	CAA	TTG	GAA	GTC	CTG	ACG	CAT	CCC	1060
Gly	Lys	He	Val	Ser	Trp	Cys	Ser	Gln	Leu	Glu	Val	Leu	Thr	His	Pro	
330					335					340					345	
TCG	TTG	GGA	TGT	TTC	GTG	ACA	CAC	TGC	GGG	TGG	AAT	TCG	ACT	CTA	GAG	1108
Ser	Leu	Gly	Cys	Phe	Val	Thr	His	Cys	Gly	Trp	Asn	Ser	Thr	Leu	Glu	
				350					355					360		
AGT	ATA	TCT	TTC	GGG	GTT	CCG	ATG	GTG	GCT	TTT	CCG	CAG	TGG	TTC	GAT	1156
Ser	lle	Ser	Phe	Gly	Val	Pro	Met	Val	Ala	Phe	Pro	Gln	Trp	Phe	Asp	
			365					370					375			
CAA	GGG	ACG	AAT	GCG	AAG	CTG	ATG	GAG	GAT	GTG	TGG	AGG	ACG	GGT	GTG	1204
Gln	Gly	Thr	Asn	Ala	Lys	Leu	Met	Glu	Asp	Val	Trp	Arg	Thr	Gly	Val	
		380					385					390				

wo 9	99/052	287													PCT/JI	298/03199
AGA	GTG	AGA	GCT	AAT	GAG	GAG	GGT	AGC	GTC	GTT	GAT	GGT	GAT	GAA	ATT	1252
Arg	Val	Arg	Ala	Asn	Glu	Glu	Gly	Ser	Val	Val	Asp	Gly	Asp	Glu	Ile	
	395					400					405					
AGG	AGA	TGT	ATT	GAG	GAG	GTT	ATG	GAT	GGG	GGA	GAA	AAG	AGT	AGG	AAA	1300
Arg	Arg	Cys	lle	Glu	Glu	Val	Met	Asp	Gly	Gly	Glu	Lys	Ser	Arg	Lys	
410					415					420					425	
CTT	AGA	GAG	AGT	GCT	GGC	AAG	TGG	AAG	GAT	TTG	GCA	AGA	AAA	GCT	ATG	1348
Leu	Arg	G1 u	Ser	Ala	Gly	Lys	Trp	Lys	Asp	Leu	Ala	Arg	Lys	Ala	Met	
				430					435					440		
GAG	GAA	GAT	GGA	тст	TCA	GTT	AAC	AAC	CTC	AAG	GTC	TTT	CTT	GAT	GAG	1396
Glu	Glu	Asp	Gly	Ser	Ser	Val	Asn	Asn	Leu	Lys	Val	Phe	Leu	Asp	Glu	
			445	;				450)				455			
GTT	GT/	GG1	OTA 1	TAA	AGAC	GTA	AATG	AGGT	rcc c	САТА	.GGCA	A AA	TTGC	AAAT		1448
Val	Val	Gly	/ 11e	:												
		460	461	L												
TTC	CATC	rcgt	AAG	TGA/	ATA (TTT	TGGC	T T	TAAT	TTGT	TCO	GAGTT	TGT	TTTT	CAAAAT	1508
TT	ATCT	TGTA	ATT	TAC!	TT/	GAGT(GTAAA	T T	ragto	CTGAT	TT	raac ₁	rgga	AAA	ATATAA	1568
ΑT	TCAT	TGTT	GAG	ACTC	TTC A	ATCA	AAATO	CA TO	CTGAT	гттс	TT	ratt(STCT	TGGT	CAAAAT	1628
TC	TCAT	ATCA	ATT	GGAA	AAA A	ATAA	ATTT(CA A	AATC	GTCC	A AT	TTTG	AACC	AAG	AAAGAAG	1688
TA	TAAT	TTGA	CCA	AAAT	AAT A	AAAA	GGAT"	TC A	AGTG	ATCT	r ga	TGAA	GTGT	CTG	AGCGACC	1748
AG	TTCT	АТАТ	TTT	TCCA	CCG	AATT	ТСТА	AC G	AGTT	TTTG	A AT	TTTT	TTTA	GCC	AAAATC(1808
GA	СТАА	СТТТ	GTA	CAAA	ATG .	AAAA	GTTA	TA T	GATG	AAAT'	TT T	AAAA.	AACA	AAC'	TCAGACA	1868
AT	AATA	AAGC	CCG	AAAG	TAG	TAAA	ATTA	сс т	GACG	AAAT'	T TG	CAAT	TTCG	CCT	CCTATT	1928
TA	TTTA	TTTT	GGT	GTGT	TTA	ATAA	ATCG	GT T	TTTA	TACT	т тт	AATT	AAAA	TAA	AAGTGA	G 1988
АТ	GCA1	'GATA	GCT	TGGT	GAG	ТАТА	TATG	AG T	TGAT	GGTA	A TG	TACG	ATAT	TTT	СТАААА	A 2048

配列: 4

AAAAAAAAA AAAA

2062

配列の長さ:1671

配列の型:核酸

鎖の数:二本鎖

トポロジー:直鎖状

起源

生物名:トレニア

組織の種類:花弁

直接の起源

5

ライブラリー名: cDNA library

クローン名: p S T G T 5

配列

AACACATAAA AAAAAAATAA AAGAAGAAAT AATTAAAAAA AAAA ATG GTT AAC 53

Met Val Asn

1

AAA CGC CAT ATT CTA CTA GCA ACA TTC CCA GCA CAA GGC CAC ATA AAC

101
Lys Arg His IIe Leu Leu Ala Thr Phe Pro Ala Gln Gly His IIe Asn

10 15

CCT TCT CTC GAG TTC GCC AAA AGG CTC CTC AAC ACC GGA TAC GTC GAC

149

Pro Ser Leu Glu Phe Ala Lys Arg Leu Leu Asn Thr Gly Tyr Val Asp

20 25 30 35

CAA GTC ACA TTC TTC ACG AGT GTA TAC GCA TTG AGA CGC ATG CGC TTC 197
Gln Val Thr Phe Phe Thr Ser Val Tyr Ala Leu Arg Arg Met Arg Phe

40 45 50

GAA ACC GAT CCG AGC AGC AGA ATC GAT TTC GTG GCA TKT YCA GAT TCT 245
Glu Thr Asp Pro Ser Ser Arg Ile Asp Phe Val Ala X X Asp Ser

55 60 65

wo s	99/05:	287													PCT/	JP98/03199
TAC	GAT	GAT	GGC	TTA	AAG	AAA	GGC	GAÇ	GAT	GGC	AAA	AAC	TAC	ATG	TCG	293
Tyr	Asp	Asp	Gly	Leu	Lys	Lys	Gly	Asp	Asp	Gly	Lys	Asn	Tyr	Met	Ser	
		70					75					80				
GAG	ATG	AGA	AAG	CGC	GGA	ACG	AAG	GCC	TTA	AAG	GAC	ACT	CTT	ATT	AAG	341
Glu	Met	Arg	Lys	Arg	Gly	Thr	Lys	Ala	Leu	Lys	Asp	Thr	Leu	He	Lys	
	85					90					95					
CTC	AAC	GAT	GCT	GCG	ATG	GGA	AGT	GAA	TGT	TAC	AAT	CGC	GTG	AGC	TTT	389
Leu	Asn	Asp	Ala	Ala	Met	Gly	Ser	Glu	Cys	Tyr	Asn	Arg	Val	Ser	Phe	
100					105					110					115	
GTG	GTG	TAC	TCT	CAT	CTA	TTT	TCG	TGG	GCA	GCT	GAA	GTG	GCG	CGT	GAA	437
Val	Val	Tyr	Ser	His	Leu	Phe	Ser	Trp	Ala	Ala	Glu	Val	Ala	Arg	Glu	
				120					125					130		
GTC	GAC	GTG	CCG	AGT	GCC	CTT	CTT	TGG	ATT	GAA	CCG	GCT	ACG	GTT	TTC	485
Val	Asp	Val	Pro	Ser	Ala	Leu	Leu	Trp	He	Glu	Pro	Ala	Thr	Val	Phe	
			135					140					145			
GAT	GTG	TAC	TAT	TTT	TAC	TTC	AAT	GGG	TAT	GCC	GAT	GAT	ATC	GAT	GCG	533
Asp	Val	Tyr	Tyr	Phe	Tyr	Phe	Asn	Gly	Tyr	Ala	Asp	Asp	lle	Asp	Ala	
		150					155					160				
GGC	TCA	GAT	CAA	ATC	CAA	CTG	CCC	AAT	CTT	CCG	CAG	CTC	TCC	AAG	CAA	581
Gly	Ser	Asp	Gln	He	Gln	Leu	Pro	Asn	Leu	Pro	Gln	Leu	Ser	Lys	Gln	
	165					170					175					
GAT	CTC	CCC	TCT	TTC	СТА	CTC	CCT	TCG	AGC	CCC	GCG	AGA	TTC	CGA	ACC	629
Asp	Leu	Pro	Ser	Phe	Leu	Leu	Pro	Ser	Ser	Pro	Ala	Arg	Phe	Arg	Thr	
180					185					190					195	
CTA	ATG	AAA	GAA	AAG	TTC	GAC	ACG	CTC	GAC	AAA	GAA	CCG	AAA	GCG	AAG	677
Leu	Met	Lys	Glu	Lys	Phe	Asp	Thr	Leu	Asp	Lys	Glu	Pro	Lys	Ala	Lys	
				200	İ				205	,				210		

GT	C '	TTG	ATA	AAC	ACG	TTC	GAC	GCA	TTA	GAA	ACC	GAA	CAA	CTC	AAA	G	CC	725
۷a	1	Leu	lle	Asn	Thr	Phe	Asp	Ala	Leu	Glu	Thr	Glu	Gln	Leu	Lys	A	la	
				215					220					225				
ΑT	С	GAC	AGG	TAT	GAA	CTA	ATA	TCC	ATC	GGC	CCA	TTA	ATC	CCA	TCA	T	CG	773
I 1	е	Asp	Arg	Tyr	Glu	Leu	lle	Ser	lle	Gly	Pro	Leu	He	Pro	Ser	S	er	
			230					235					240					
ΓA	`A	TTC	TCA	GAT	GGC	AAC	GAC	CCC	TCA	TCA	AGC	AAC	AAA	TCC	TAC	: 0	GT	821
Ιl	e	Phe	Ser	Asp	Gly	Asn	Asp	Pro	Ser	Ser	Ser	Asn	Lys	Ser	Tyr	٠ (Gly	
		245					250					255						
GC	GA	GAC	CTC	TTC	AGA	AAA	GCC	GAT	GAA	ACT	TAC	ATG	GAC	TGG	CT/	A <i>I</i>	AAC	869
G	l y	Asp	Leu	Phe	Arg	Lys	Ala	Asp	Glu	Thr	Tyr	Met	Asp	Trp	Le	1 /	Asn	
20	60					265	ı				270					;	275	
T	CA	AAA	CCC	GAA	TCA	TCG	GTC	GTT	TAC	GTT	TCG	TTC	GGG	AGC	CT	C	CTG	917
S	er	Lys	Pro	Glu	Ser	Ser	Val	Val	Tyr	Val	Ser	Phe	Gly	Ser	Le	u	Leu	
					280)				285					29	0		
A	GG	CTO	CCC	G AAA	CC0	CAA	ATC	GAA	GAA	ATA	GCA	ATA	GGC	CT.	г тс	A	GAC	965
A	rg	Let	ı Pro	o Lys	s Pro	Gli	n Met	Glu	Glu	ılle	Ala	He	Gly	Lei	u Se	r	Asp	
				295	5				300)				30	5			
A	CC	AA	A TC	G CC	A GT	г ст	C TGC	G GT(G AT	A AGA	AGA	AA(C GA	A GA	G GG	C	GAC	1013
1	`hr	Ly	s Se	r Pr	o Va	1 Le	u Trı	Va!	111	e Arg	g Arg	g Ası	ı Glu	ı Gl	u Gi	у	Asp	
			31	0				319	5				320)				
(AA:	CA.	A GA	G CA	A GC	A GA	A GA	A GA	A GA	G AA(G CTO	G CT	G AG	C TT	C TI	Т	GAT	1061
(ilι	ı Gl	n Gl	u G1	n Al	a Gl	u Gl	u G1	u G1	u Lys	s Le	u Le	u Se	r Ph	e Ph	ne	Asp	
		32	5				33	0				33	5					
. (CG'	r ca	C GG	A AC	T GA	A CG	A CT	C GG	G AA	A AT	C GT	G AC	A TG	G TG	C TO	CA	CAA	1109
,	Ar	g Hi	s Gl	y Th	ır Gl	u Ar	g Le	u Gl	y Ly	s II	e Va	l Th	r Tr	р Су	's S	er	Gln	
	34	0				34	5				35	0					355	

WO 99/05287

PCT/JP98/03199

wo 9	99/05	287													PCT	/JP98/03199
TTG	GAT	GTT	CTG	ACG	CAT	AAG	TCG	GTG	GGA	TGC	TTC	GTG	ACG	CAT	TGC	1157
Leu	Asp	Val	Leu	Thr	His	Lys	Ser	Val	Gly	Cys	Phe	Val	Thr	His	Cys	
				360					365					370		
GGT	TGG	AAT	тст	GCT	ATC	GAG	AGC	CTG	GCT	TGT	GGT	GTG	CCC	GTG	GTG	1205
Gly	Trp	Asn	Ser	Ala	lle	Glu	Ser	Leu	Ala	Cys	Gly	Val	Pro	Val	Val	
			375					380					385			
TGC	TTT	CCT	CAA	TGG	TTC	GAT	CAA	GGG	ACT	AAT	GCG	AAG	ATG	ATC	GAA	1253
Cys	Phe	Pro	Gln	Trp	Phe	Asp	Gln	Gly	Thr	Asn	Ala	Lys	Met	lle	Glu	
		390					395					400				
GAT	GTG	TGG	AGG	AGT	GGT	GTG	AGA	GTC	AGA	GTG	AAT	GAG	GAA	GGC	GGC	1301
Asp	Val	Trp	Arg	Ser	Gly	Val	Arg	Val	Arg	Val	Asn	Glu	Glu	Gly	Gly	
	405	ı				410					415	i				
GTT	GTT	GAT	AGG	CGT	GAG	ATT	AAG	AGG	TGC	GTC	TCG	GAG	GTT	ATA 7	AAG	1349
Val	Val	Asp	Arg	Arg	Glu	Ile	Lys	Arg	Cys	Val	Ser	Glu	ı Val	Ile	e Lys	
420					425	•				430)				435	
AGT	CG/	A GAO	G TTC	G AGA	GAA	AGC	GCA	ATG	ATO	G TGC	G AA(G GG1	TT(G GC	r aaa	1397
Ser	Arı	g Glu	u Lei	ı Arg	g Glu	ı Ser	Ala	Met	Met	tTr	Ly:	s Gly	y Le	u Ala	a Lys	
				440)				445	5				45	0	
GA/	A GC	T AT	G GA	r GA	A GAA	A CGT	r GG/	A TC	A TC/	A ATO	G AA	C AA	г ст	G AA	G AAT	1445
Gli	ı Al	a Me	t As	p G1:	u Glu	u Arg	g Gly	y Sei	r Sei	r Me	t As	n As	n Le	u Ly	s Asn	
			45	5				460)				46	5		
TT	TA T	T AC	T AG	G AT	T AT	T AA'	r ga.	A AA'	T GC	C TC	A TA	AGTT	GTAC			1488
Ph	e II	e Th	r Ar	g Il	e II	e As	n Gl	u As	n Al	a Se	r					
		47	0				47	5		47	8					

TATATATGTT ATTATTGTTG TTATGGACGT CGAATTAAGT ATTAGTTAAA TGATATGTAT

TTAGAGGAAG GCCAAAACGG GCTACACCCG GCAGGCCACG GGTTGGAAAA GCCCGCCATG

1548

1608

1668

1671 AAA

配列:5

配列の長さ:1437

配列の型:核酸

鎖の数:二本鎖

トポロジー:直鎖状

起源

生物名:シソ (Perilla frutescens)

組織の種類:葉

直接の起源

ライブラリー名: cDNA library

クローン名: p 8 R 6

配列

60 TTCAAAACTC ATAACGTGAT TGAGCTAATG TGCACATCTT CCTCTTCAAA GTCTACAGTG TCATCCTACC AGCATCATCA TGATCAATCT CTTTATAATG AGGAGAATGG AGTAACAAGG 120 AGTGGGTTTT GTTACTCAGC TTCAACCTAC GTACGTACTA CTACTGACTC AACTCTCAAG 180 AGAATGAATA TAATATATAA TGGGCGATAG ATCTTTGTAG ATATGTAGGT GTAGCCTGCA 240 GGTGGTTAAT TAATTTCCGG TGTGGGAAAA TAAATAAATA AATAAATATA GCG ATG AGC 299 Met Ser 1

AGC AGC AGC AGA AGG TGG AGA GAG AAT GAG GGG ATG CGA AGG ACA 347 Ser Ser Ser Ser Arg Arg Trp Arg Glu Asn Glu Gly Met Arg Arg Thr

> 10 15

TTG CTG GGG TTG GGT TTG GGG CAG TTG GTT TCT TTC GAT TTG GCT ATC 395 Leu Leu Gly Leu Gly Leu Gly Gln Leu Val Ser Phe Asp Leu Ala Ile

25 20

ATG ACC TTT TCT GCT TCT TTG GTT TCA ACC ACA GTG GAT GCA CCA CTT 443

Met	Thr	Phe	Ser	Ala	Ser	Leu	Val	Ser	Thr	Thr	Val	Asp	Ala	Pro	Leu	
35					40					45					50	
ACT	ATG	TCG	TTC	ACT	ACA	TAC	ACT	GTT	GTG	GCC	CTG	СТС	TAT	GGA	ACC	491
Thr	Met	Ser	Phe	Thr	Thr	Tyr	Thr	Val	Vai	Ala	Leu	Leu	Tyr	Gly	Thr	
				55					60					65		
ATC	TTG	CTT	TAC	CGC	CGC	CAC	AAA	TTC	TTG	GTT	CCA	TGG	TAC	TGG	TAT	539
lle	Leu	Leu	Tyr	Arg	Arg	His	Lys	Phe	Leu	Val	Pro	Trp	Tyr	Trp	Tyr	
			70					75					80			
GCT	CTC	CTG	GGG	TTC	GTG	GAC	GTC	CAC	GGC	AAT	TAT	CTT	GTT	AAT	AAA	587
Ala	Leu	Leu	Gly	Phe	Val	Asp	Val	His	Gly	Asn	Tyr	Leu	Val	Asn	Lys	
		85					90					95				
GCA	TTC	GAG	TTG	ACA	TCG	ATT	ACG	AGT	GTG	AGC	ATA	CTG	GAT	TGT	TGG	635
Ala	Phe	Glu	Leu	Thr	Ser	lle	Thr	Ser	Val	Ser	He	Leu	Asp	Cys	Trp	
	100					105					110					
ACA	ATC	GTG	TGG	TCC	ATC	ATC	TTT	ACA	TGG	ATG	TTC	CTA	GGC	ACA	AAA	683
Thr	lle	Val	Trp	Ser	lle	He	Phe	Thr	Trp	Met	Phe	Leu	Gly	Thr	Lys	
115					120					125					130	
TAC	TCT	GTA	TAC	CAG	TTT	GTC	GGT	GCT	GCT	ATT	TGT	GTA	GGA	GGC	CTC	731
Tyr	Ser	Val	Tyr	Gln	Phe	Val	Gly	Ala	Ala	lle	Cys	Val	Gly	Gly	/ Leu	
				135					140					148	5	
CTC	CTC	GTG	CTT	CTT	TCC	GAC	TCA	GGG	GTC	ACT	· GCT	GCT	GGT	TC(G AAT	779
Leu	Leu	Val	Leu	Leu	Ser	Asp	Ser	Gly	Val	Thr	Ala	. Ala	Gly	/ Se	r Asn	
			150	1				155	;				160)		
CCT	CTI	TTC	GGT	GAT	TTT	CTT	GTO	ATA	ACA	GGC	тст	TTA	TT(TT(C ACA	827
Pro	Let	Let	Gly	Asp	Phe	Leu	Val	He	Thr	Gly	/ Ser	· Ile	Lei	ı Ph	e Thr	
		165	5				170)				175	i			

PCT/JP98/03199

WO 99/05287

WO 99/05287			PCT/JP98/03199
CTC AGC ACT GTT GGT	CAG GAA TAC TGC G	TG AAG AGG AAA GAT CGT	ATT 875
Leu Ser Thr Val Gly	Gln Glu Tyr Cys Va	al Lys Arg Lys Asp Arg	lle
180	185	190	
GAA GTA GTA GCA ATG	ATC GGT GTA TTT G	GT ATG CTC ATC AGT GCA	ACC 923
Glu Val Val Ala Met	Ile Gly Val Phe G	ly Met Leu Ile Ser Ala	Thr
195	200	205	210
GAG ATT ACT GTG CTG	GAG AGG AAT GCC C	TC TCA TCA ATG CAG TGG	TCT 971
Glu Ile Thr Val Leu	Glu Arg Asn Ala L	eu Ser Ser Met Gln Trp	Ser
215	2	220 225	
ACT GGA CTT TTG GCA	GCC TAT GTT GTT T	TAT GCA CTG TCC AGC TTC	CTC 1019
Thr Gly Leu Leu Ala	Ala Tyr Val Val T	Syr Ala Leu Ser Ser Phe	Leu
230	235	240	
TTC TGC ACA CTC ACC	CCT TTT CTT CTC A	AAG ATG AGT GGC GCT GCA	TTT 1067
Phe Cys Thr Leu Thr	Pro Phe Leu Leu l	Lys Met Ser Gly Ala Ala	. Phe
245	250	255	
TTC AAT CTT TCC ATG	CTT ACA TCT GAT A	ATG TGG GCT GTT GCA ATT	AGG 1115
Phe Asn Leu Ser Met	Leu Thr Ser Asp M	Met Trp Ala Val Ala Ilo	e Arg
260	265	270	
ACA TTC ATA TAC AAC	CAG GAG GTT GAT	TGG TTA TAC TAT TTG GC	TTT 1163
Thr Phe Ile Tyr Asn	Gln Glu Val Asp	Trp Leu Tyr Tyr Leu Ala	1 Phe
275	280	285	290
TGT CTC GTT GTT GTT	GGA ATA TTC ATA	TAT ACA AAA ACA GAG AA	G GAT 1211
Cys Leu Val Val Val	Gly Ile Phe Ile	Tyr Thr Lys Thr Glu Ly	s Asp
295	i	300 30	5
CCT AAC AAT ACG AGA	GCC CTT GAG AAT	GGA AAC TTG GAT CAT GA	A TAT 1259
Pro Asn Asn Thr Arg	Ala Leu Glu Asn	Gly Asn Leu Asp His Gl	u Tyr

WO 99/05287 PCT/	/JP98/03199
AGT CTC CTT GAG GAT CAA GAT GAC ACA CCA AGA AAA CCA TAGCTAGCTT	1308
Ser Leu Leu Glu Asp Gln Asp Asp Thr Pro Arg Lys Pro	
325 330 335	
TGCCCACAAT CTTTTCATCA ACAGTTTTAA ATAATTCGTG AGGGGGAGAG AGATCGAGAT	1368
ACTAATTAAT GGACGTCTAT TATATAGTTG GAGGTTTTTG TTTTATTTAT TTATTTGAGT	1428
AAAAAAAA	1437
配列: 6	
配列の長さ:2105	
配列の型:核酸	
鎖の数:二本鎖	
トポロジー:直鎖状	
起源	
生物名:ペチュニア	
組織の種類:花弁	
直接の起源	
ライブラリー名:cDNA library	
クローン名:pSPGT1	
配列	
AGTGAGCGCA ACGCAATTAA TGTGAGTTAG CTCACTCATT AGGCACCCCA GGCTTTACAC	60
TTTATGCTTC CGGCTCGTAT GTTGTGTGGA ATTGTGAGCG GATAACAATT TCACACAGGA	120
AACAGCTATG ACCATGATTA CGCCAAGCTC GAAATTAACC CTCACTAAAG GGAACAAAAG	180
CTGGAGCTCC ACGCGGTGGC GGCCGCTCTA GAACTAGTGG ATCCCCCGGG CTGCAGGAAT	240
TCCGTTGCTG TCGCCACAAT TTACAAACCA AGAAATTAAG CATCCCTTTC CCCCCCTTAA	300

1 5

Met Val Gln Pro His Val

358

AAAACATACA AGTTTTTAAT TTTTCACTAA GCAAGAAAAT ATG GTG CAG CCT CAT GTC

WU	99/U S	287													PCT	7JP98/031
ATC	TTA	ACA	ACA	TTT	CCA	GCA	CAA	GGC	CAT	АТТ	AAT	CCA	GCA	CTT	CAA	406
lle	Leu	Thr	Thr	Phe	Pro	Ala	GIn	Gly	His	Ile	Asn	Pro	Ala	Leu	Gln	
			10					15					20			
TTT	GCC	AAG	AAT	CTT	GTC	AAG	ATG	GGC	ATA	GAA	GTG	ACA	TTT	TCT	ACA	454
Phe	Ala	Lys	Asn	Leu	Val	Lys	Met	Gly	He	Glu	Val	Thr	Phe	Ser	Thr	
		25					30					35				
AGC	ATT	TAT	GCC	CAA	AGC	CGT	ATG	GAT	GAA	AAA	TCC	ATT	CTT	AAT	GCA	502
Ser	He	Tyr	Ala	Gln	Ser	Arg	Met	Asp	Glu	Lys	Ser	lle	Leu	Asn	Ala	
	40					45					50					
CCA	AAA	GGA	TTG	AAT	TTC	ATT	CCA	TTT	TCC	GAT	GGC	TTT	GAT	GAA	GGT	550
Pro	Lys	Gly	Leu	Asn	Phe	He	Pro	Phe	Ser	Asp	Gly	Phe	Asp	Glu	Gly	
55					60					65					70	
TTT	GAT	CAT	TCA	AAA	GAC	CCT	GTA	TTT	TAC	ATG	TCA	CAA	CTT	CGT	AAA	598
Phe	Asp	His	Ser	Lys	Asp	Pro	Val	Phe	Tyr	Met	Ser	Gln	Leu	Arg	Lys	
				75					80					85	•	
TGT	GGA	AGT	GAA	ACT	GTC	AAA	AAA	ATA	ATT	CTC	ACT	TGC	TCT	GAA	AAT	646
Cys	Gly	Ser	Glu	Thr	Val	Lys	Lys	He	lle	Leu	Thr	Cys	Ser	Glu	Asn	
			90)				95					100)		
GGA	CAG	CCT	` ATA	ACT	TGC	CTA	CTT	TAC	TCC	ATT	TTC	CTT	CCT	TGC	GCA	694
Gly	Gln	Pro	lle	Thr	Cys	Leu	Leu	Tyr	Ser	lle	Phe	Lev	Pro	Tr	Ala	
		105	i				110)				115	j			
GCA	GAG	GTA	GCA	A CGT	GAA	GT1	CAC	ATC	ССТ	TCT	GCT	CTI	CT	r TG(G AGT	742
Ala	Glu	ı Val	Ala	a Arg	g Glu	ı Val	His	s Ile	Pro	Ser	· Ala	. Le	ı Lei	ı Trı	Ser	
	120)				125	j				130)				
CAA	CCA	A GC/	A ACA	A ATA	A TTO	G GAC	AT/	TAT A	TAC	TT(C AAC	TT	r ca	r GG	A TAT	790
Glr	ı Pro	Ala	a Thi	r Ile	e Lei	ı Ası	o Ile	е Туг	- Tyr	Phe	e Ası	n Pho	e Hi	s Gl	y Tyr	

GAA .	AAA	GCT	ATG	GCT	AAT	GAA	TCC	AAT	GAT	CCA	AAT	TGG	TCC	ATT	CAA	838
Glu	Lys	Ala	Met	Ala	Asn	Glu	Ser	Asn	Asp	Pro	Asn	Trp	Ser	He	Gln	
				155					160					165		
СТТ	CCC	GGG	CTT	CCA	CTA	CTG	GAA	ACT	CGA	GAT	CTT	CCT	TCA	TTT	TTA	886
Leu	Pro	Gly	Leu	Pro	Leu	Leu	Glu	Thr	Arg	Asp	Leu	Pro	Ser	Phe	Leu	
			170					175					180			
CTT	CCT	TAT	GGT	GCA	AAA	GGG	AGT	CTT	CGA	GTT	GCA	CTT	CCA	CCA	TTC	934
Leu	Pro	Tyr	Gly	Ala	Lys	Gly	Ser	Leu	Arg	Val	Ala	Leu	Pro	Pro	Phe	
		185					190					195				
AAA	GAA	TTG	ATA	GAC	ACA	TTA	GAT	GCT	GAA	ACC	ACT	CCT	AAG	ATT	CTT	982
Lys	Glu	Leu	lle	Asp	Thr	Leu	Asp	Ala	Glu	Thr	Thr	Pro	Lys	Πe	Leu	
	200					205					210					
GTG	AAT	ACA	TTT	GAT	GAA	TTA	GAG	CCT	GAG	GCA	CTC	AAT	GCA	ATT	GAA	1030
Val	Asn	Thr	Phe	Asp	Glu	Leu	Glu	Pro	Glu	Ala	Leu	Asn	Ala	. Ile	e Glu	
215					220)				225	i				230	
GGT	TAT	' AAG	TTT	TAT	GGA	ATT	GGA	CCG	TTG	TTA	ССТ	тст	GC7	TT	C TTG	1078
Gly	Tyr	Lys	Phe	Tyr	Gly	lle	Gly	Pro	Leu	He	Pro	Ser	Ala	. Ph	e Leu	
				235					240)				24	5	
GGT	GGA	AA7	r GAC	сст	TT/	A GAT	GCT	TCA	TTT	GG1	r GG1	r GAT	CT	TT T	T CAA	1126
Gly	Gly	/ Ası	n Asp	Pro	Le	ı Asp	Ala	Ser	Phe	Gly	/ Gly	/ Asp	Le	u Ph	e Gln	
			250)				255	5				26	0		
ААТ	TC	A AA'	r gac	TAT	TA ?	G GAA	TGC	TT/	A AAG	C TC	A AAG	G CCA	A AA	T TC	A TCA	1174
Asn	Sei	r Ası	n Ası	yr Tyr	· Me	t Glu	ı Trp	Lei	u Ası	ı Se	r Lys	s Pro	As	n Se	r Ser	•
		26	5				270)				279	5			
GTT	r gt	T TA	T ATA	A TC	TT 1	T GG(G AG	г ст	A AT	G AA	T CC	A TC	T AT	T AG	C CAA	1222
Val	l Va	1 Ty	r II	e Sei	r Ph	e Gl	y Se	r Le	u Me	t As	n Pr	o Se	r II	e Se	r Gln	1
	28	0				28	5				29	0				

PCT/JP98/03199

WO 99/05287

ATG	GAG	GAG	ATA	TCA	AAA	GGG	TTG	ATA	GAC	ATA	GGA	AGG	CCG	TTT	TTA	1270
Met	Glu	Glu	Пе	Ser	Lys	Gly	Leu	Ιle	Asp	He	Gly	Arg	Pro	Phe	Leu	
295					300					305					310	
TGG	GTG	ATA	AAA	GAA	AAT	GAA	AAA	GGC	AAA	GAA	GAA	GAG	AAT	AAA	AAG	1318
Trp	Val	Ile	Lys	Glu	Asn	Glu	Lys	Gly	Lys	Glu	Glu	Glu	Asn	Lys	Lys	
				315					320					325		
CTT	GGT	TGT	ATT	GAA	GAA	TTG	GAA	AAA	ATA	GGA	AAA	ATA	GTT	CCA	TGG	1366
Leu	Gly	Cys	Ile	Glu	Glu	Leu	Glu	Lys	lle	Gly	Lys	lle	Val	Pro	Trp	
			330					335					340			
TGT	TCA	CAA	CTT	GAA	GTT	CTA	AAA	CAT	CCA	TCT	TTA	GGA	TGT	TTT	GTT	1414
Cys	Ser	Gln	Leu	Glu	Val	Leu	Lys	His	Pro	Ser	Leu	Gly	Cys	Phe	Val	
		345					350					355				
TCT	CAT	TGT	GGA	TGG	AAT	TCA	GCC	TTA	GAG	AGT	TTA	GCT	TGT	GGA	GTG	1462
Ser	His	Cys	Gly	Trp	Asn	Ser	Ala	Leu	Glu	Ser	Leu	Ala	Cys	Gly	Val	
	360					365					370					
CCA	GTT	GTG	GCA	TTT	CCT	CAA	TGG	ACA	GAT	CAA	ATG	ACA	AAT	GCC	AAA	1510
Pro	Val	Val	Ala	Phe	Pro	Gln	Trp	Thr	Asp	Gln	Met	Thr	Asn	Ala	Lys	
375					380					385					390	
CAA	GTT	GAA	GAT	GTG	TGG	AAA	AGT	GGA	GTA	AGA	GTG	AGA	ATA	AAT	GAA	1558
Gln	Val	Glu	Asp	Val	Trp	Lys	Ser	Gly	Val	Arg	Val	Arg	He	Asn	Glu	
				395					400					405		
GAT	GGT	GTT	GTT	GAA	AGT	GAG	GAA	ATC	AAA	AGG	TGT	ATT	GAA	TTG	GTA	1606
Asp	Gly	Val	Val	Glu	Ser	Glu	Glu	He	Lys	Arg	Cys	He	Glu	Leu	Val	
			410					415					420			
ATG	GAT	GGA	GGA	GAG	AAA	GGG	GAA	GAA	TTG	AGA	AAG	AAT	GCT	AAG	AAA	1654
Met	Asp	Gly	Gly	Glu	Lys	Gly	Glu	Glu	Leu	Arg	Lys	Asn	Ala	Lys	Lys	
		425					430					435				

PCT/JP98/03199

WO 99/05287

WO 99/05287 PCT/JP98/03199 TGG AAA GAA TTG GCT AGA GAA GCT GTG AAG GAA GGT GGA TCT TCA CAC 1702 Trp Lys Glu Leu Ala Arg Glu Ala Val Lys Glu Gly Gly Ser Ser His 440 450 445 AAG AAT TTA AAG GCT TTT ATT GAT GAT GTT GCC AAA GGG TTT TAATATTTAC 1754 Lys Asn Leu Lys Ala Phe Ile Asp Asp Val Ala Lys Gly Phe 455 460 465 468 AGGCTTTTGC CGTGATATTA CTTCCCCTAG TTGGCGATTC ACTCTTTGTG GACTTGCTTG 1814 ACAAAAACT GAGGGAATGT GCTAAGACAC GCTAATGCTT TAAGAAGTCA TTTCCAAGGC 1874 TTGAAGCCTG CTTTTAAAAC TTATTAGCCA GTAATCTATA GGGTTCTCTT CTATTTTTCT 1934 CTGTCTCTCT TTTTAGCCTT TTTCTTTCCA AGGTTTAAGA ATAGCGTGAA CATAGCTTAG 1994 TACGTAGTCT TGGTATCTCT ATCTTACCAA GTGCAAGATT ATGCTTATGC TGTCCTCCTA 2054 AATTTCTTAA TAAAATGCAA GATGAAAAAG TACAAAAAA AAAAAAAAA A 2105

請求の範囲

1. フラボノイドの 5 位に糖を転移する活性を有する蛋白質をコードする遺伝子。

- 2. 配列番号 7~10又は12のいずれかに記載のアミノ酸配列を有しフラボノイドの5位に糖を転移する活性を有する蛋白質、あるいはそれらのアミノ酸配列に対して1個又は複数個のアミノ酸の付加、欠失及び/又は他のアミノ酸による置換により修飾されているアミノ酸配列を有し且つフラボノイドの5位に糖を転移する活性を維持している蛋白質をコードする請求項1記載の遺伝子。
- 3. 配列番号 7~10又は12のいずれかに記載のアミノ酸配列に対して30%以上の相同性を有するアミノ酸配列を有し、且つフラボノイドの5位に糖を転移する活性を有する蛋白質をコードする請求項1記載の遺伝子。
- 4. 配列番号 7~10又は12のいずれかに記載のアミノ酸配列に対して50%以上の相同性を有するアミノ酸配列を有し、且つフラボノイドの5位に糖を転移する活性を有する蛋白質をコードする請求項1記載の遺伝子。
- 5. 配列番号 7~10又は12のいずれかに記載のアミノ酸配列をコードする塩基配列の一部又は全部に対して、5×SSC、50 ℃の条件下でハイブリダイズすることができ、且つフラボノイドの 5位に糖を転移する活性を有する蛋白質をコードする請求項1記載 の遺伝子。
- 6. 請求項1~5のいずれか1項に記載の遺伝子を含んでなるベクター。
 - 7. 請求項6に記載のベクターにより形質転換された宿主。
 - 8. 請求項1~5のいずれか1項に記載の遺伝子によってコード

される蛋白質。

9. 請求項7に記載の宿主を培養し、又は成育させ、そして該宿主からフラボノイドの5位に糖を転移する活性を有する蛋白質を採取することを特徴とする該蛋白質の製造方法。

- 10. 請求項1~5のいずれか1項に記載の遺伝子が導入された植物もしくはこれと同じ性質を有するその子孫又はそれらの組織。
- 11. 請求項10に記載の植物又はこれと同じ性質を有するその子孫の切花。

配 列 表

SEQUENCE LISTING

< 1 1 0 > Suntory Limited
< 1 2 0 > Gene Coding for Protein Having Sugar-Transfer Acti
 vity

 $\langle 1 3 0 \rangle STY - F846 - PCT$

 $\langle 1 5 0 \rangle$ JP PH9 -200571

 $\langle 1 \ 5 \ 1 \rangle \ 1997 - 07 - 25$

< 1 6 0 > 1 1

 $\langle 2 \ 1 \ 0 \rangle \ 1$

< 2 1 1 > 1 5 0 7

< 2 1 2 > D N A

< 2 1 3 > Perilla frutescens

15

< 4 0 0 > 1

gaaaatttcc acaaaa atg gtc cgc cgc cgc gtg ctg cta gca acg ttt 49

Met Val Arg Arg Arg Val Leu Leu Ala Thr Phe

1 5 10

cct gcg caa ggc cac ata aat ccc gcc ctc caa ttc gcc aag aga ctc 97
Pro Ala Gln Gly His Ile Asn Pro Ala Leu Gln Phe Ala Lys Arg Leu

20 25

cta aaa gcc ggc act gac gtc aca ttt ttc acg agc gtt tat gca tgg 145 Leu Lys Ala Gly Thr Asp Val Thr Phe Phe Thr Ser Val Tyr Ala Trp

30 35 40

cgc cgc atg gcc aac aca gcc tcc gcc gct gcc gga aac cca ccg ggc 193
Arg Arg Met Ala Asn Thr Ala Ser Ala Ala Gly Asn Pro Pro Gly

45 50 55

ctc	gac	ttc	gtg	gcg	ttc	tcc	gac	ggc	tac	gac	gac	ggg	ctg	aag	ccc	241
Leu	Asp	Phe	Val	Ala	Phe	Ser	Asp (Gly '	Tyr	Asp	Asp	Gly	Leu	Lys	Pro	
60					65					70					75	
tgc	ggc	gac	ggg	aag	cgc	tac	atg	tcc	gag	atg	aaa	gcc	cgc	ggc	tcc	289
Cys	Gly	Asp	Gly	Lys	Arg	Tyr	Met	Ser	Glu	Met	Lys	Ala	Arg	Gly	Ser	
				80					85					90		
												gtc				
Glu	Ala	Leu	Arg	Asn	Leu	Leu	Leu	Asn	Asn	His	Asp	Val			· Val	
			95					100					105			
												gcg				
Val	Tyr	Ser	His	Leu	Phe	Ala	Trp	Ala	Ala	Glu	Val	Ala		Glu	ı Se	r
		110					115					120				400
												acc				
Gln) Ser	Ala	Leu			Val	Glu	Pro		. Thr	Val	Le	u Cy	S
	125					130					135		~~			t 481
												ato				
		r Ty	r Phe	e Tyr			Gly	lyr	Ala			ı Ile	: AS	וא ק	a 01 15	
140					145			4		150		~ ~~		a ca		
												g gag				
261	AS	p GI	u 110	e Gri 160		ı Fic	J MIE	Let	169		ט טט	u Gli	1 01	17		
a t			o tt			a cc	7 020	7 2 7 2			o ao	a tt	c cg			tg 577
												g Ph				_
LE	u 11	0 111	17		u DC	u		180		0 01	-		18			
at	a 22	າດ ດລ			σ σα	ล ลก	t tt:			t ga	a ga	g aa			aa g	tg 625
												u Ly				
MIC	ر		an <i>D</i> ,	J 50	_ 01		19				_	20		·		

ttg	gtg	aac	acg	ttt	gat	gcg	ttg	gag	ccc :	gat	gca	ctc	acg	gct	a	t t	673
Leu	Val	Asn	Thr	Phe	Asp	Ala	Leu	Glu	Pro	Asp	Ala	Leu	Thr	Ala	I	le	
	205					210					215						
gat	agg	tat	gag	ttg	atc	ggg	atc	ggg	ccg	ttg	att	ccc	tcc	gco	t	tc	721
Asp	Arg	Tyr	Glu	Leu	He	Gly	He	Gly	Pro	Leu	He	Pro	Ser	Ala	ι P	he	
220					225					230					2	35	
ttg	gac	ggc	gga	gat	ccc	tcc	gaa	acg	tct	tac	ggc	ggc	gat	ct	t t	tc	769
Leu	Asp	Gly	Gly	Asp	Pro	Ser	Glu	Thr	Ser	Tyr	Gly	Gly	Asp	Le	ı F	he	
				240	١				245					25	0		
gaa	aaa	. tcg	gag	gag	aat	aac	tgc	gtg	gag	tgg	ttg	gao	ace	g aa	g (ccg	817
Glu	Lys	Ser	Glu	Glu	ı Asn	Asn	Cys	Val	Glu	Trp	Leu	ı Asp	Thi	r Ly	s l	Pro	
			255	5				260					26	5			
aaa	tc1	tte	ggt	g gtg	g tai	gtg	tcg	ttt	ggg	agc	gti	t tt	g ag	g tt	t.	cca	865
Lys	Sei	Se	r Va	l Va	l Ty	- Val	Ser	Phe	Gly	Ser	Val	l Le	u Ar	g Ph	е	Pro	
		27	0				275	5				28	0				
aag	gc	a ca	a at	g ga	a ga	gat	t ggg	g aaa	ggg	cta	tt	a gc	c tg	c gg	a	agg	913
Lys	s Al	a Gl	n Me	t GI	u Gl	u Il	e Gly	/ Lys	Gly	Le	ı Le	u Al	a Cy	s G	y	Arg	
	28	5				29	0				29	5					
CC	g tt	t tt	a tg	g at	g at	a cg	a ga	a cag	g aag	g aa	t ga	c ga	.c gg	c g	aa	gaa	961
Pro	o Ph	e Le	u Tr	p Me	t II	e Ar	g Gl	u Gli	n Lys	s As	n As	p As	p Gl	y G	lu	Glu	
30	0				30	5				31	0					315	
ga	a ga	ia ga	ia ga	ig tt	g ag	t tg	c at	t gg	g ga	a tt	g aa	ia aa	ia a	tg g	gg	aaa	1009
Gl	u Gl	u G	lu G	lu Le	eu Se	er Cy	s Il	e Gl	y Gl	u Le	u Ly	s L	ys Me	et G	l y	Lys	
				32	20				32	5				3	30		
at	a g	tt t	cg t	gg t	gc to	eg ca	ıg tt	g ga	g gt	t ct	g g	cg c	ac c	ct g	cg	ttg	1057
11	e Va	al S	er T	rp C	ys S	er G	in Le	eu Gl	u Va	l Le	u A	la H	is P	ro A	la	Leu	
			3	35				34	10				3	45			

gga	tgt	ttc	gtg	acg	cat	tgt	ggg	tgg	aac	tcg	gct	gtg	gag	agc	ttg	1105
Gly	Cys	Phe	Val	Thr	His	Cys	Gly	Trp	Asn	Ser	Ala	Val	Glu	Ser	Leu	
		350					355					360				
agt	tgc	ggg	gtt	ccg	gtg	gtg	gcg	gtg	ccg	cag	tgg	ttt	gat	cag	acg	1153
Ser	Cys	Gly	Val	Pro	Val	Val	Ala	Val	Pro	Gln	Trp	Phe	Asp	Gln	Thr	
	365					370					375					
acg	aat	gcg	aag	ctg	att	gag	gat	gcg	tgg	ggg	aca	ggg	gtg	aga	gtg	1201
Thr	Asn	Ala	Lys	Leu	ile	Glu	Asp	Ala	Trp	Gly	Thr	Gly	Val	Arg	Val	
380					385					390)				395	
aga	atg	aat	gaa	ggg	ggt	ggg	gtt	gat	gga	tct	gag	ata	ı gaş	gagg	tgt	1249
Arg	Met	Asr	Glu	Gly	Gly	Gly	Val	Asp	Gly	Ser	Glu	Hie	e Glu	ı Arg	Cys	
				400)				405	•				410)	
gtg	gag	gati	ggtg	gate	g gat	ggg	gg1	gag	g aag	gage	c aaa	ct	a gt	g aga	ı gaa	1297
Val	Glu	ı Me	t Va	l Me	t Ası	Gly	Gl	y Glu	ı Lys	Se	r Lys	s Le	u Va	i Arı	g Glu	
			41	5				420	0				42	5		
aat	t gc	c at	a aa	a tg	g aa	g ac	t tt:	g gc	c aga	a ga	a gc	c at	g gg	a ga	g gat	1345
Ası	n Ala	a Il	e Ly	s Tr	p Ly	s Th	r Le	u Al	a Ar	g Gl	u Al	a Me	t Gl	y Gl	u Asp	
		43	0				43	5				44	.0			
gg	a tc	t to	a ct	c aa	g aa	t ct	c aa	c gc	c tt	t ct	t ca	t ca	a gt	t gc	a cgt	1393
Gl	y Se	r Se	er Le	u Ly	s As	n Le	u As	n Al	a Ph	e Le	eu Hi	s Gl	n Va	ıl Al	a Arg	
	44	5				45	0				45	5				
gc	t ta	ata	cacaa	ı aat	ggct	ttc	cact	ttta	at c	tact	tcaaa	ic a	ccgg	ttcaa	L	1446
Al	a															
46	0															
at	aaa	tatc	с сс	ttcca	actt	ctt	tcta	ttt	cacta	atca	ca t	ttat	aatt	t ta	gtaaca	aa 1506
a																1507
(2	2 1	0 >	2													

< 2 1 1 > 1 4 7 0	
< 2 1 2 > D N A	
< 2 1 3 > Perilla frutescens	
< 4 0 0 > 2	
accaaaccaa aacaaaattt ccacaaaa atg gtc cgc cgc cgc gtg ctg cta	48
Met Val Arg Arg Val Leu Leu	
1 5	
gca acg ttt ccg gcg caa ggc cac ata aat ccc gcc ctc caa ttc gcc	96
Ala Thr Phe Pro Ala Gln Gly His Ile Asn Pro Ala Leu Gln Phe Ala	
10 15 20	
aag aga ctc cta aaa gcc ggc act gac gtc acg ttt ttc acg agc gtt	144
Lys Arg Leu Leu Lys Ala Gly Thr Asp Val Thr Phe Phe Thr Ser Val	
25 30 35 40	
tat gca tgg cgc cgc atg gcc aac aca gcc tcc gcc gct gcc gga aac	192
Tyr Ala Trp Arg Arg Met Ala Asn Thr Ala Ser Ala Ala Gly Asn	
45 50 55	
cca ccg ggc ctc gac ttc gtg gcg ttc tcc gac ggc tac gac gac ggg	240
Pro Pro Gly Leu Asp Phe Val Ala Phe Ser Asp Gly Tyr Asp Asp Gly	
60 65 70	
ctg aag ccc ggc ggc gac ggg aag cgc tac atg tcc gag atg aaa gcc	288
Leu Lys Pro Gly Gly Asp Gly Lys Arg Tyr Met Ser Glu Met Lys Ala	
75 80 85	
cgc ggc tcc gag gcc tta aga aac ctc ctt ctc aac aac gac gac gtc	336
Arg Gly Ser Glu Ala Leu Arg Asn Leu Leu Leu Asn Asn Asp Asp Val	
90 95 100	

ict t	tc	gtc	gtc	tac	tcc	cac	ctc	ttt	gca	tgg	gcg	gcg	gag	gtg	gc	g	384
Thr F	he	Val	Val	Tyr	Ser	His	Leu	Phe	Ala	Trp	Ala	Ala	Glu	Val	Al	a	
105					110					115					12	20	
cgt	ttg	tcc	cac	gtc	ccg	acc	gcc	ctt	ctc	tgg	gtc	gag	ccc	gcc	ac	cc	432
Arg !	Leu	Ser	His	Val	Pro	Thr	Ala	Leu	Leu	Trp	Val	Glu	Pro	Ala	Tł	ır	
				125					130					135	i		
gtg	ctg	tgc	ata	tac	cac	ttc	tac	ttc	aac	ggc	tac	gca	gao	gag	a	tc	480
Val	Leu	Cys	lle	Туг	His	Phe	Tyr	Phe	Asn	Gly	Tyr	Ala	Asp	Glu	ıl	le	
			140	١				145					150)			
gac	gcc	ggt	tcc	aat	gaa	att	cag	ctc	cct	cgg	ctt	cca	. tc	c cti	g g	ag	528
Asp	Ala	Gly	/ Ser	Asn	Glu	ile	Gln	Leu	Pro	Arg	, Leu	Pro	Se	r Le	u G	lu	
		155	5				160)				168	5				
cag	cgo	ag	t ct	t ccg	g acg	g ttt	cts	g ctg	cct,	gc	g ace	g cc	g ga	g ag	a t	tc	576
G1n	Arg	g Se	r Lei	u Pro	Th:	r Phe	e Lei	u Lei	ı Pro	Ala	a Thi	r Pr	o Gl	u Ar	g F	he	
	170)				175	5				180	0					
cgg	tt	g at	g at	g aa	g ga	g aa	g ct	g gaa	a act	tt	a ga	c gg	t ga	a ga	g	aag	624
Arg	Le	u Me	t Me	t Ly	s G1	u Ly	s Le	u Gl	u Thi	r Le	u As	p Gl	y G1	u G1	u l	Lys	
185					19	0				19	5					200	
gcg	aa	a gt	a tt	ggt	g aa	c ac	g tt	t ga	t gc	g tt	g ga	g co	c ga	at go	ca	ctc	672
Ala	. Ly	s Va	ıl Le	eu Va	.1 As	n Th	r Ph	ie As	p Al	a Le	eu Gl	u Pr	o A	sp A	la	Leu	
				20	5				21	0				2	15		
acg	g go	t a	tt ga	at ag	g ta	ıt ga	g ti	tg at	c gg	g a	tc gg	gg C	cg t	tg a	t t	ccc	720
Thi	r A1	a I	le A	sp Aı	g Ty	r Gl	u Le	eu II	e Gi	y []	le Gl	ly P	ro L	eu I	le	Pro	
			2	20				22	25				2	30			
tc	c ge	cc t	tc t	tg g	ac g	gc ga	aa g	at c	cc to	cc g	aa a	cg t	ct t	ac g	gc	ggc	768
								sp P									
			35					40					45				

gat	ctt	ttc	gaa	aaa	tcg	gag	gag	aat	aac	tgc	gtg	gag	tg	g t	tg	aa	.c	816
Asp	Leu	Phe	Glu	Lys	Ser	Glu	Glu	Asn	Asn	Cys	Val	Glu	Tr	рI	Leu	As	n	
	250					255					260							
tcg	aag	ccg	aaa	tct	tcg	gtg	gtg	tat	gtg	tcg	ttt	ggg	ag	C	gtt	t1	tg	864
Ser	Lys	Pro	Lys	Ser	Ser	Val	Vai	Tyr	Val	Ser	Phe	Gly	Se	er '	Val	Le	eu	
265					270					275						28	80	
agg	ttt	cca	aag	gca	caa	atg	gaa	gag	att	ggg	aaa	ggg	ct	a	tta	g	СС	912
Arg	Phe	Pro	Lys	Ala	Gln	Met	Glu	Glu	lle	Gly	Lys	Gly	Le	eu	Leu	A	la	
				285					290						295			
tgc	gga	agg	ccc	ttt	tta	tgg	atg	ata	cga	gaa	cag	aag	g aa	a t	gac	g	ac	960
Cys	Gly	Arg	Pro	Phe	Leu	Trp	Met	He	Arg	Glu	Gln	Lys	s A	sn	Asp	A	sp	
			300)				305					3	10				
ggo	gaa	. gaa	ı gaa	a gaa	gaa	gaa	. gaa	gag	ttg	agt	tgo	at	t g	gg	gaa	ιt	tg	1008
Gly	Glu	ı Glu	ı Glı	ı Glu	Glu	Glu	Glu	Glu	Leu	Ser	Cys	s II	e G	ly	Glu	ı L	eu	
		315	5				320)				32	5					
aaa	a aaa	at	g gg	g aaa	a ata	gts	g tcg	gtgg	tgc	t cg	g ca	g tt	g g	ag	gti	t c	ctg	1056
Ly	s Ly:	s Me	t Gl	y Lys	s Ile	e Val	l Se	r Tri	Cys	Sei	GI	n Le	u G	ilu	Val	1 I	Leu	
	33	0				33	5				34	0						
gc	g ca	с сс	t gc	g tt	g gg	a tg	t tt	c gt	g ac	g ca	t tg	t gg	g t	gg	aa	С	tcg	1104
A1	a Hi	s Pr	o Al	a Le	u Gl	у Су	s Ph	e Va	1 Th	r Hi	s Cy	s G1	y 7	ſrp	As	n :	Ser	
34	5				35	0				35	5						360	
gc	t gt	g ga	g ag	c tt	g ag	t tg	c gg	g at	t cc	g gt	g gt	g go	cg !	gtg	СС	g	cag	1152
Al	a Va	.1 G1	u Se	er Le	u Se	r Cy	s G1	y Il	e Pr	o Va	1 Va	1 A	la '	Val	Pr	0	Gln	
				36	5				37	0					37	5		
tg	gt	t ga	it ca	ag ac	g ac	g aa	t go	g aa	g ct	g at	t ga	ig g	at	gcg	g tg	g	ggg	1200
Tı	p Pl	ne As	sp G	in Th	r Th	r As	n Al	a Ly	s Le	u II	e G	lu A	sp	Ala	ı Tr	·p	Gly	
			31	80				38	15					390)			

aca	ggg	gtg	aga	gtg	aga	atg	aat	gaa	ggg	ggt	ggg	gtt	gat	gga	tgt	1248
Thr	Gly	Val	Arg	Val	Arg	Met	Asn	Glu	Gly	Gly	Gly	Val	Asp	Gly	Cys	
		395					400					405				
gag	ata	gaa	agg	tgt	gtg	gag	atg	gtg	atg	gat	ggg	ggt	gac	aag	acc	1296
Glu	He	Glu	Arg	Cys	Val	Glu	Met	Val	Met	Asp	Gly	Gly	Asp	Lys	Thr	
	410					415					420					
aaa	cta	gtg	aga	gaa	aat	gcc	atc	aaa	tgg	aag	act	ttg	gcc	aga	caa	1344
Lys	Leu	Val	Arg	Glu	Asn	Ala	He	Lys	Trp	Lys	Thr	Leu	Ala	. Arg	Gln	
425					430	ı				435					440	
gcc	atg	gga	. tag	gatg	gat	cttc	acto	aa c	aatc	tcaa	c go	cttt	ctto			1393
Ala	Met	Gly	,													
		443	3													
gto	aagt	tgc	acao	tttt	aa	tctgo	tcaa	aa ca	gcgg	t t ca	aat	taaa	tatc	ccc	ttccac	t 1453
taa	ıaaaa	aaa	aaaa	ıaaa												1470
< 2	1 () >	3													
< 2	1 1	\	2 0	6 2	2											
< 2	1 2	2 >	D N	Α												
< 2	1 3	3 >	Verl	bena	hy	bri	da									
< 4	0) >	3													
at	ttta	ccaa	aaa	aata	aaa	aaaa	a at	g ag	c ag	a gc	t ca	c gt	c ct	c tt	g gcc	52
							Me	t Se	r Ar	g Al	a Hi	s Va	.l Le	eu Le	eu Ala	
								1				5				
ac	a tt	c co	a go	ca ca	g gg	ga ca	c at	a aa	it co	c go	c ct	t ca	ia ti	tc go	c aag	100
Th	r Pt	ie Pi	o Al	a Gl	n G	ly Hi	s II	le As	sn Pr	o Al	a Le	eu Gl	n Pi	ne Al	la Lys	
1	Λ					15				2	20				25	;

cgt	ctc	gca	aat	gcc	gac	att	caa	gtc	aca	ttc	ttc	acc	agc	gt	c t	ac	148
Arg	Leu	Ala	Asn	Ala	Asp	He	Gln	Val	Thr	Phe	Phe	Thr	Ser	Va	1 T	уr	
				30					35					4	0		
gca	tgg	cgc	cgc	atg	tcc	aga	acc	gcc	gct	ggc	tca	aac	ggg	ct	c a	.tc	196
Ala	Trp	Arg	Arg	Met	Ser	Arg	Thr	Ala	Ala	Gly	Ser	Asn	Gly	/ Le	u I	le	
			45	1				50					55	5			
aat	ttt	gtg	tcg	ttt	tcc	gac	ggg	tat	gac	gac	ggg	tta	. cas	g CC	C E	gga	244
Asn	Phe	Val	Ser	Phe	Ser	Asp	Gly	Tyr	Asp	Asp	Gly	Leu	Gli	n Pr	10 (Gly	
		60)				65					70)				
gac	gat	ggs	g aag	g aac	tac	atg	tcg	gag	atg	aaa	ago	aga;	gg g	t a	ta	aaa	292
Asp	Asp	Gl	y Ly:	s Asn	Tyr	Met	Ser	Glu	Met	Lys	Ser	· Ar	g Gl	y I	l e	Lys	
	75	•				80)				85	5					
gco	ttg	gag	c ga	t act	t cti	gca	gcc	aat	aat	gto	ga	t ca	a aa	a a	gc	agc	340
Ala	Lei	ı Se	r As	p Th	r Lei	ı Ala	ı Ala	Asn	Asn	Va1	l As ₁	p Gl	n Ly	's S	er	Ser	
90					98	õ				100)					105	
				c gt													388
Ly	s II	e Th	r Ph	e Va	l Va	l Ty	r Sei	His	s Lei	ı Ph	e Al	a Tr	p Al	la A	la	Lys	
				11	0				115	5				1	20		
gt	g gc	g cg	gt ga	g tt	c ca	t ct	c cg	g ago	c gc	g ct	a ct	c tg	g a	ttg	gag	cca	436
Va	1 Al	a Ai	g Gl	u Ph	e Hi	s Le	u Ar	g Se	r Al	a Le	u Le	u Tr	p I	le (Glu	Pro	
			12	25				13	0				13	35			
				tg ga													484
Al	a Th	r Va	al L	eu As	sp Il	e Ph	е Ту	r Ph	е Ту	r Ph	ie As			yr :	Ser	Asp	
			40				14						50				
				cg g													532
G	u I	le A	sp A	la G	ly Se	er As	sp Al	a II	e Hi	s Le			ly G	ily	Leu	Pro	
	1	55				10	30				1	65					

gtg	ctg	gcc	cag	cgt	gat	tta	ccg	tct	ttc	ctt	ctt	cct	tcc	acg	C	at	580
Val	Leu	Ala	Gln	Arg	Asp	Leu	Pro	Ser	Phe	Leu	Leu	Pro	Ser	Thr	Н	is	
170					175					180					1	85	
gag	aga	ttc	cgt	tca	ctg	atg	aag	gag	aaa	ttg	gaa	act	tta	gaa	ı g	gt	628
Glu	Arg	Phe	Arg	Ser	Leu	Met	Lys	Glu	Lys	Leu	Glu	Thr	Leu	Gli	ı G	1 y	
				190					195					200	0		
gaa	gaa	aaa	cct	aag	gtc	ttg	gtg	aac	agc	ttt	gat	gcg	ttg	ga	go	ct	676
Glu	Glu	Lys	Pro	Lys	Val	Leu	Val	Asn	Ser	Phe	Asp	Ala	Lei	ı G1	u F	ro	
			205					210					215	5			
gat	gcg	cto	aag	gcc	att	gat	aag	tac	gag	atg	att	gca	ati	c gg	g	ccg	724
Asp	Ala	Leu	ı Lys	Ala	lle	Asp	Lys	Tyr	Glu	Met	He	e Ala	ı II	e Gl	y !	Pro	
		220)				225					230)				
ttg	att	cc'	t tco	gca	. ttc	ttg	gac	ggt	aaa	gat	t cc	t tc	g ga	c ag	g	tct	772
Leu	lle	e Pr	o Sei	Ala	Phe	Leu	ı Asp	Gly	Lys	Ası	Pr	o Se	r As	p Ai	g	Ser	
	235	5				240)				24	5					
tto	gg	c gg	a ga	t ttg	g tto	gag	g aaa	ı ggg	tcg	g aa	t ga	c ga	c ga	t t	gC	ctc	820
Phe	e GI	y G1	y As	p Lei	u Phe	e Gli	u Ly:	s Gly	Sei	r As	n As	p As	p As	р С	ys	Leu	
250)				255	5				26	0					265	
ga	a tg	g tt	g ag	c ac	g aa	t cc	t cg	a tci	t tc	g gt	g gt	t ta	.c g	tt t	cg	ttc	868
G1	u Tr	p Le	eu Se	r Th	r Ası	n Pr	o Ar	g Sei	r Se	r Va	.l Va	ll Ty	r Va	al S	er	Phe	
				27	0				27	5				2	80		
gg	a ag	c ti	tc gt	t aa	t ac	g ac	g aa	g tc	g ca	a at	g ga	ia ga	ig a	ta g	ca	aga	916
G1	y Se	er Pl	ne Va	ıl As	n Th	r Th	ır Ly	's Se	r Gl	n Me	et G	lu G	lu I	le A	la	Arg	
			28	35				29	0				2	95			
gg	g c	tg t	ta ga	at tg	gt gg	g ag	gg CC	eg tt	t tt	g t	gg g	tg g	ta a	ga g	gta	aac	964
GI	y Le	eu L	eu A	sp Cy	s Gl	y Ai	g Pi	ro Ph	e Le	eu T	rp V	al V	al A	rg '	Val	Asn	
		3	በበ				30	05				3	10				

gaa	gga	gaa	gag	gta	ttg	ata	agt	tgc	atg	gag	gag	ttg	aaa	cga	gt	g	1012
Glu	Gly	Glu	Glu	Val	Leu	He	Ser	Cys	Met	Glu	Glu	Leu	Lys	Arg	Va	·l	
	315					320					325						
ggg	aaa	att	gta	tct	tgg	tgt	tct	caa	ttg	gaa	gtc	ctg	acg	cat	C	СС	1060
Gly	Lys	lle	Val	Ser	Trp	Cys	Ser	Gln	Leu	Glu	Val	Leu	Thr	His	Pı	ro	
330					335					340					34	45	
tcg	ttg	gga	. tgt	ttc	gtg	aca	cac	tgc	ggg	tgg	aat	tcg	act	cta	g	ag	1108
Ser	Leu	Gly	/ Cys	Phe	Val	Thr	His	Cys	Gly	Trp	Asr	ı Ser	Thi	Le	u G	lu	
				350	ı				355	i				36	0		
agt	ata	ı tc	t tto	c ggg	gtt	CCE	g atg	gtg	gct	: tti	t cci	g cas	g tg	g tt	c g	at	1156
Ser	· Ile	e Se	r Phe	e Gly	/ Val	Pro	Met	Val	Ala	ı Pho	e Pr	o Gl	n Tr	p Ph	e A	sp	
			369	5				370)				37	5			
caa	gg:	g ac	g aa	t gc	g aag	g ct	g ats	g gag	g ga	t gt	g tg	g ag	g ac	g gg	t g	gtg	1204
Gli	n Gl	y Th	r As	n Al	a Ly:	s Le	u Me	t Gl	u As	p Va	l Tr	p Ar	g Th	r Gl	y \	/al	
		38	0				38	5				39	0				
ag	a gt	g ag	a gc	t aa	t ga	g ga	g gg	t ag	c gt	c gt	t ga	it gg	gt ga	it ga	ia :	att	1252
Ar	g Va	.1 Aı	g Al	a As	n Gl	u G1	u G1	y Se	r Va	.1 Va	ıl As	sp G1	ly As	sp G	lu	He	
	39	5				40	0				40)5					
ag	g ag	ga t	gt at	tt ga	g ga	g gt	t at	g ga	t gg	g gi	ga ga	aa aa	ag a	gt a	gg	aaa	1300
Ar	g Aı	g C	ys I	le Gl	u G1	u Va	ıl Me	et As	p G	ly G	ly G	lu L	ys S	er A	rg	Lys	
41	0				41	15				4	20					425	
C	tt a	ga g	ag a	gt g	ct g	gc a	ag t	gg aa	ag g	at t	tg g	ca a	ga a	aa g	ct	atg	1348
L	eu A	rg G	lu S	er A	la G	ly L	ys T	rp Ly	ys A	sp L	eu A	la A	rg L	ys A	la	Met	
				4	30				4	35				4	40		
g	ag g	aa g	at g	ga t	ct t	ca g	tt a	ac a	ac c	tc a	ag g	tc t	tt (ett 1	gat	gag	1396
G	lu G	lu A	Asp G	Sly S	er S	er V	al A	sn A	sn L	eu L	ys V	al F	he l	eu i	Asp	Glu	
			4	145				4	50					455			

gtt gta ggt atc taaagacgta aatgaggtcc ccataggcaa aattgcaaat 1448 Val Val Gly Ile

460 461

ttatcttgta attitacatt gagtgtaaat ttagtctgat titaactgga aaaatataaa 1568 attcattgtt gagactcttc atcaaaatca tctgatttcc titaattgtct tggtcaaaat 1628 tctcatatca attggaaaaa ataaatttca aaatcgtcca attitgaacc aagaaagaag 1688 tataattga ccaaaataat aaaaggattc aagtgatctt gatgaagtgt ctgagcgacg 1748 agtictatat tittccaccg aattictaac gagtitttga attititta gccaaaatcg 1808 gactaactit gtacaaaatg aaaagtata tgatgaaatt tiaaaaaaca aactcagaca 1868 ataataaagc ccgaaagtag taaaattacc tgacgaaatt tgcaatticg cctcctatit 1928 taattititt ggtgtgtta ataaatcggt tattitacti tiaataaaa taaaagtgag 1988 atgcatgata gcttggtgag tatatatgag ttgatggtaa tgtacgatat titctaaaa 2048 aaaaaaaaaa aaaa

(2 1 0 > 4

< 2 1 1 > 1 6 7 1

<212> DNA

< 2 1 3 > Torenia hybrira

< 2 2 0 >

< 2 2 1 >

< 2 2 2 >

 \langle 2 2 3 \rangle Xaa (64) is Cys or Phe, Xaa (65) is Ser or Pro.

< 4 0 0 > 4

aacacataaa aaaaaaataa aagaagaaat aattaaaaaa aaaa atg gtt aac

Met Val Asn

53

1

aaa	cgc	cat	att	cta	cta	gca	aca	ttc	cca	gca	caa	ggc	cac	at	a a	ac	101
Lys	Arg	His	He	Leu	Leu	Ala	Thr	Phe	Pro	Ala	Gln	Gly	His	11	e A	\sn	
	5					10					15						
cct	tct	ctc	gag	ttc	gcc	aaa	agg	ctc	ctc	aac	acc	gga	tac	gt	C 1	gac	149
Pro	Ser	Leu	Glu	Phe	Ala	Lys	Arg	Leu	Leu	Asn	Thr	Gly	Tyr	Va	ıl i	Asp	
20					25					30						35	
caa	gtc	aca	ttc	ttc	acg	agt	gta	tac	gca	ttg	aga	cgc	atg	C	gC	ttc	197
Gln	Val	Thr	Phe	Phe	Thr	Ser	Val	Tyr	Ala	Leu	Arg	Arg	Met	A	rg	Phe	
				40					45					!	50		
gaa	acc	gat	ccg	agc	agc	aga	atc	gat	ttc	gtg	gca	. tkt	уса	ı g	at	tct	245
Glu	Thr	Asp	Pro	Ser	Ser	Arg	He	Asp	Phe	Val	Ala	. Xaa	ı Xa	a A	sp	Ser	
			55	5				60					6	5			
tac	gat	gai	t ggc	: tta	aag	aaa	ggc	gac	gat	ggc	aaa	a aa	c ta	c a	.tg	tcg	293
Tyr	Ası	As ₁	o Gly	y Lei	ı Lys	Lys	Gly	Asp	Asp	Gly	Ly	s Asi	n Ty	r M	let	Ser	
		7	0				7 5	i				8	0				
gag	g at	g ag	a aa	g cg	c gga	ace	g aag	gcc	t t ta	aag	g ga	c ac	t ct	t a	ıtt	aag	341
Gl	ı Me	t Ar	g Ly	s Ar	g Gly	/ Thi	Lys	s Ala	. Lei	ı Ly:	s As	p Th	r Le	u l	lle	Lys	
	8	5				90)				9	5					
ct	c aa	c ga	t gc	t gc	g atı	g gg	a ag	t gaa	a tg	t ta	c aa	t cg	c gt	g	agc	ttt	389
Le	u As	n As	p Al	a Al	a Me	t Gl	y Se	r Gl	и Су	s Ty	r As	n Ar	g Va	ıl :	Ser	Phe	
10	0				10	5				11	0					115	
gt	g gt	g ta	ic to	t ca	t ct	a tt	t tc	g tg	g gc	a gc	t ga	la gi	tg g	cg	cgt	gaa	437
Va	.l Va	l Ty	r Se	er Hi	s Le	u Ph	e Se	r Tr	p Al	a Al	a G	u Va	al A	la	Arg	Glu	
				12	20				12	5					130)	
gt	c ga	ıc g	tg c	cg ag	gt go	c ct	t ct	t tg	g at	t ga	a c	cg g	ct a	cg	gt	t ttc	485
Va	11 A:	sp Va	al P	ro Se	er Al	a Le	u Le	u Tr	p II	e G1	u P	ro A	la T	hr	Va	l Phe	
			1:	35				14	l0				1	45			

gat	gtg	tac	tat	ttt	tac	ttc a	aat	ggg	tat	gcc	gat	gat	atc	g	at g	gcg	533
Asp	Val	Tyr	Tyr	Phe	Tyr	Phe I	Asn	Gly	Tyr	Ala	Asp	Asp	He	A	sp /	Ala	
		150					155					160					
ggc	tca	gat	caa	atc	caa	ctg	ccc	aat	ctt	ccg	cag	ctc	tco	a	ag	caa	581
Gly	Ser	Asp	Gln	lle	Gln	Leu	Pro	Asn	Leu	Pro	Gln	Leu	Ser	· L	ys (Gln	
	165					170					175						
gat	ctc	ccc	tct	ttc	cta	ctc	cct	tcg	agc	ccc	gcg	aga	tto	c c	ga	acc	629
Asp	Leu	Pro	Ser	Phe	Leu	Leu	Pro	Ser	Ser	Pro	Ala	Arg	Pho	e A	rg	Thr	
180					185					190						195	
cta	atg	aaa	gaa	aag	ttc	gac	acg	ctc	gac	aaa	gaa	. ccg	aa	a g	gcg	aag	677
Leu	Met	Lys	Glu	Lys	Phe	Asp	Thr	Leu	Asp	Lys	Glu	Pro	Ly	s /	Ala	Lys	
				200					205					2	210		
						gac											725
Val	Lei	ı 116	e Asr	Thr	Phe	Asp	Ala	Leu	Glu	Thr	Gli	ı Gl	n Le	u	Lys	Ala	
			215					220					22				
						ata											773
lle	As	p Ar	g Ty	r Glu	ı Lev	ılle	Ser	116	e Gly	/ Pro	Le			0.0	Ser	Ser	
		23					235					24					
						c gac											821
Ιle	e Ph	e Se	r As	p Gl	y Ası	n Asp	Pro	Se:	r Se	r Se			's S	er	Туг	Gly	
	24					250					25						000
																aac	869
G1:	y As	p Le	u Ph	e Ar	g Ly	s Ala	a Ası	p Gl	u Th			et As	зр Т	rp	Lei	ı Asn	
26					26					27						275	
																ctg	917
Se	r Ly	/s Pi	o G1	lu S€	r Se	r Va	l Va	1 Ty	r Va	ıl S€	er Pl	ne G	ly S	er		u Leu	
				28	80				28	35					29	0	

agg	ctc	ccg	aaa	ccc	caa	atg	gaa	gaa	ata	gca	ata	ggg	ctt	t	ca :	gac	965
Arg	Leu	Pro	Lys	Pro	Gln	Met	Glu	Glu	He	Ala	He	Gly	Leu	S	er.	Asp	
			295					300					305	i			
acc	aaa	tcg	cca	gtt	ctc	tgg	gtg	ata	aga	aga	aac	gaa	gag	g	gc	gac	1013
Thr	Lys	Ser	Pro	Val	Leu	Trp	Val	lle	Arg	Arg	Asn	Glu	Glu	ı G	ly	Asp	
		310					315					320					
gaa	caa	gag	caa	gca	gaa	gaa	gaa	gag	aag	ctg	ctg	agc	tto	c t	tt	gat	1061
Glu	Gin	Glu	Gln	Ala	Glu	Glu	Glu	Glu	Lys	Leu	Leu	Ser	Pho	e F	he	Asp	
	325					330					335						
cgt	cac	gga	act	gaa	cga	ctc	ggg	aaa	atc	gtg	aca	. tgg	tg	C 1	tca	caa	1109
Arg	His	Gly	Thr	Glu	Arg	Leu	Gly	Lys	Пe	Val	Thr	Trp	Су	s :	Ser	Gln	
340)				345					350)					355	
ttg	gat	gtt	ctg	acg	cat	aag	tcg	gtg	gga	. tgc	tto	gts	g ac	g	cat	tgc	1157
Leu	ı Asp	Val	Lei	ı Thr	His	Lys	Ser	· Val	G1 y	Cys	s Phe	e Va	1 Th	r	His	Cys	
				360)				365	5					370		
gg	t tg	g aa	t tc	t gc	tato	gag	gago	ctg	g gct	t tg	t gg	t gt	g co	c	gtg	gtg	1205
Gl	y Tr	p Ası	n Se	r Ala	a 116	e Glu	ı Sei	r Lei	ı Ala	a Cy	s Gl	y Va	1 Pr	0.	Val	Val	
			37	5				380)				38	35			
tg	c tt	t cc	t ca	a tg	g tt	c ga	t ca	a gg	g ac	t aa	t gc	g aa	g a	tg	ato	gaa	1253
Су	s Ph	e Pr	o G1	n Tr	p Ph	e As	p Gl	n Gl	y Th	r As	n Al	a Ly	s M	et	116	e Glu	
		39	0				39	5				40	0				
ga	t gt	g tg	g ag	g ag	t gg	t gt	g ag	a gt	c ag	a gt	g aa	it ga	g g	aa	gg	c ggc	1301
As	p Va	.l Tr	p Ar	g Se	r Gl	y Va	i Ar	g Va	1 Ar	g Va	ıl As	sn G!	iu G	I u	G1	y Gly	
	40)5				41	0				41	15					
gt	t g	tt ga	it as	gg Cg	gt ga	g at	t aa	lg ag	g tg	c gt	tc to	cg g	ag g	t t	at	a aag	1349
Va	al Va	al As	sp A	rg Ai	g Gl	u II	e Ly	s Ar	g Cy	's Va	al S	er G	lu V	al	11	e Lys	1
42	20				42	25				43	30					435	i

agt	cga	gag	ttg	aga	gaa	agc	gca	atg	atg	tgg	aag	ggt	ttg	gct	aaa	139	7
Ser	Arg	Glu	Leu	Arg	Glu	Ser	Ala	Met	Met	Trp	Lys	Gly	Leu	Ala	Lys		
				440					445					450			
gaa	gct	atg	gat	gaa	gaa	cgt	gga	tca	tca	atg	aac	aat	ctg	aag	aat	14	45
Glu	Ala	Met	Asp	Glu	Glu	Arg	Gly	Ser	Ser	Met	Asn	Asn	Leu	Lys	Asn		
			455					460					465				
ttt	att	act	agg	att	att	aat	gaa	aat	gcc	t ca	taa	gttg	tac			14	88
Phe	Ile	Thr	Arg	He	He	Asn	Glu	Asn	Ala	Ser							
		470	}				475	i		478							
tat	atat	gtt	atta	ttgt	tg t	tatg	gac	gt cg	gaatt	aagt	att	agtt	aaa	tgat	atgta	t 1	548
tta	gagg	aag	gcca	aaac	gg g	ctac	acc	cg go	aggo	cacg	ggt	tgga	ıaaa	gcc	egccat	g l	608
ati	taaa	ata	tata	ttt1	aa a	ataa	ata	tt ti	tctac	ctatt	aaa	actaa	aaaa	aaaa	aaaaa	.a. 1	668
aaa	ì															1	1671
< 2	1 0) >	5														
< 2	1 1	\	1 4	3	7												
< 2	1 2	2 >	D N	Α													
< 2	1 :	3 >	Per	illa	fr	ute	scei	ns									
< 4	0	< 0	5														
tt	caaa	acto	ata	acgt	gat	tgag	ctaa	itg t	gcac	atct	t cc	tctt	caaa	gto	tacag	tg	60
to	atco	tacc	ago	atca	tca	tgat	caat	tct c	ttta	taat	g ag	gaga	atgg	agt	aacaa	gg	120
ag	tggg	tttt	gtt	acto	agc	ttca	acci	tac g	gtace	gtact	a ct	act	gacto	aac	tctca	ag	180
ag	gaatg	gaata	a taa	tata	taa	tggg	gcga	tag a	itctt	ttgta	ig at	tatg	taggt	gta	agcctg	ca	240
gi	gtggi	taat	t taa	attt	cgg	tgt	ggga	aaa	taaa	taaa	ta aa	ataa	atata	gc	g atg	agc	299
															Met	Ser	

1

agc	agc	agc	agc	aga	agg	tgg	aga	gag	aat	gag	ggg	atg	cga	agg	a	ca	347
Ser	Ser	Ser	Ser	Arg	Arg	Trp	Arg	Glu	Asn	Glu	Gly	Met	Arg	Arg	T	hr.	
		5					10					15					
ttg	ctg	ggg	ttg	ggt	ttg	ggg	cag	ttg	gtt	tct	ttc	gat	ttg	gci	t a	ıtc	395
Leu	Leu	Gly	Leu	Gly	Leu	Gly	Gln	Leu	Val	Ser	Phe	Asp	Leu	Ala	a l	le	
	20					25					30						
atg	acc	ttt	tct	gct	tct	ttg	gtt	tca	acc	aca	gtg	gat	gca	. cc	a (ett	443
Met	Thr	Phe	Ser	Ala	Ser	Leu	Val	Ser	Thr	Thr	Val	Asp	Ala	Pr	o 1	Leu	
35					40					45						50	
act	atg	tcg	ttc	act	aca	tac	act	gtt	gtg	gcc	ctg	cto	tat	gg	a	acc	491
Thr	Met	Ser	Phe	Thr	Thr	Tyr	Thr	Val	Val	Ala	. Lev	Let	ı Tyı	GI	у	Thr	
				55	i				60	}				6	5		
atc	ttg	ct	t tac	cgc	cgc	cac	aaa	ttc	ttg	gti	cca	ı tgg	g ta	c tg	g	tat	539
Ile	Lei	ı Lei	ц Ту	r Arg	Arg	His	Lys	Phe	Leu	ı Val	Pro	Tr	ту:	r Tr	·p	Tyr	
			70	0				75	i				8	0			
gct	cto	c ct	g gg	g tto	gtg	gao	gto	c cac	gg	c aa	t ta	t ct	t gt	t aa	ıt	aaa	587
Ala	Lei	u Le	u Gl	y Pho	e Val	Ası	p Val	l His	s Gly	y Ası	n Ty	r Le	u Va	1 A:	sn	Lys	
		8	5				90	0				9	5				
gca	a tt	c ga	g tt	g ac	a tc	g at	t ac	g ag	t gt	g ag	c at	a ct	g ga	t t	gt	tgg	635
Ala	a Ph	e Gl	u Le	u Th	r Se	r II	e Th	r Se	r Va	l Se	r II	e Le	u As	рС	уs	Trp	
	10	0				10	5				11	0					
ac	a at	c gt	gtg	g to	c at	c at	c tt	t ac	a tg	g at	g tt	c ct	a gg	gc a	ca	aaa	683
Th	r II	e Va	ıl Tr	p Se	r II	e Il	e Ph	e Th	r Tr	р Ме	t Ph	e Le	eu Gl	ly T	hr	Lys	
11	5				12	0				12	25					130	
ta	c to	t g	ta ta	ic ca	g tt	t gt	c gg	gt go	t go	t at	t t	gt gi	ta gi	ga g	gc	ctc	731
Ту	r Se	er Va	al T	yr Gl	n Ph	e Va	ıl Gl	y Al	a Al	a II	le C	ys Va	al G	ly (l y	Leu	
				13	35				14	10				1	45	i	

ctc c	tc g	tg	ctt	ctt	tcc	gac	tca	ggg	gtc	act	gct	gct	ggt	tcg	aat	779
Leu L	eu V	al	Leu	Leu	Ser	Asp	Ser	Gly	Val	Thr	Ala	Ala	Gly	Ser	Asn	
			150					155					160			
cct c	tt t	tg	ggt	gat	ttt	ctt	gtc	ata	aca	ggc	tct	att	ttg	ttc	aca	827
Pro L	eu i	.eu	Gly	Asp	Phe	Leu	Val	lle	Thr	Gly	Ser	He	Leu	Phe	Thr	
	1	165					170					175				
ctc a	igc a	act	gtt	ggt	cag	gaa	tac	tgc	gtg	aag	agg	aaa	gat	cgt	att	875
Leu S	Ser '	Thr	Val	Gly	Gln	Glu	Tyr	Cys	Val	Lys	Arg	Lys	Asp	Arg	lle	
]	180					185					190					
gaa ş	gta	gta	gca	atg	atc	ggt	gta	ttt	ggt	atg	ctc	ato	agt	gca	acc	923
Glu '	Val	Val	Ala	Met	He	Gly	Val	Phe	Gly	Met	Leu	He	Ser	Ala	Thr	
195					200					205					210	
gag	att	act	gtg	ctg	gag	agg	aat	gcc	cto	tca	tca	. atg	g cag	g tg	g tct	971
Glu	lle	Thr	Val	Leu	Glu	Arg	Asn	Ala	Leu	Ser	Ser	Me	t Gli	Tr	o Ser	
				215					220)				22	5	
act	gga	cti	tts	g gca	gco	tat	gtt	gti	t tat	gca	ı ctş	g to	c ag	c tt	c ctc	1019
Thr	Gly	Leı	ı Lei	u Ala	Ala	ı Tyr	· Val	Va!	Туі	Ala	a Le	ı Se	r Se	r Ph	e Leu	
			236	0				23	5				24	0		
ttc	tgc	aca	a ct	c acc	cc'	t tt	t cti	t ct	c aa	g ats	g ag	t gg	c gc	t gc	a ttt	1067
Phe	Cys	Th	r Le	u Thr	Pr	o Phe	e Lei	ı Le	u Ly	s Me	t Se	r Gl	y Al	a Al	a Phe	
		24	5				250)				25	5			
ttc	aat	ct	t tc	c ats	g ct	t ac	a tc	t ga	t at	g tg	g gc	t gt	t go	a at	t agg	1115
Phe	Asn	Le	u Se	r Me	t Le	u Th	r Se	r As	p Me	t Tr	p Al	a Va	l Al	a II	e Arg	
	260)				26	5				27	0				
aca	tto	at	a ta	c aa	c ca	g ga	g gt	t ga	t tg	g tt	a ta	c ta	it ti	g g	cc ttt	1163
Thr	Phe	e I 1	e Ty	r As	n Gl	n G1	u Va	l As	p Tr	p Le	ец Ту	r Ty	r Le	eu A	la Phe	:
275					28	30				28	35				290)

tgt	ctc	gtt	gtt	gtt	gga	ata	ttc	ata	tat	aca	aaa	aca	gag	aag	gat	1211	
					Gly												
				295					300					305			
cct	aac	aat	acg	aga	gcc	ctt	gag	aat	gga	aac	ttg	gat	cat	gaa	tat	1259	
Pro	Asn	Asn	Thr	Arg	Ala	Leu	Glu	Asn	Gly	Asn	Leu	Asp	His	Glu	Tyr		
			310					315					320				
agt	ctc	ctt	gag	gat	caa	gat	gac	aca	cca	aga	aaa	cca	tag	ctag	ctt	1308	
Ser	Leu	Leu	Glu	Asp	Gln	Asp	Asp	Thr	Pro	Arg	Lys	Pro					
		325	i				330					335	•				
tgo	ccac	aat	cttt	tcat	ca a	cagt	ttta	a at	aatt	cgtg	agg	ggga	.gag	agat	cgaga	t 136	88
act	aatt	aat	ggao	gtct	at t	atat	agtt	g ga	ıgg t t	tttg	ttt	tatt	tat	ttat	ttgag	t 142	28
aaa	actaattaat ggacgtctat tatatagttg gaggtttttg ttttatttat ttatttgagt 1428 aaaaaaaaa																
< 2	1 (>	6														
〈 2	1 1	. >	2 1	0 5	5												
< 2	1 2	2 >	D N	Α													
< 2	1 3	3 >	Peti	ınia	hy	bri	da										
< 4	0 () >	6														
ag	tgag	cgca	acg	caat	taa	tgtg	agtt	ag c	tcac	tcat	t ag	gcac	ccca	ggc	tttaca	ac	60
t t	tatg	cttc	cgg	ctcg	tat	gttg	tgtg	ga a	ttgt	gago	g ga	taac	aatt	tca	cacag	ga	120
aa	.cago	tate	acc	atga	tta	cgcc	aagc	tc g	aaat	taac	c ct	cact	aaag	g gga	acaaa:	ag	180
ct	ggag	ctc	acg	cggt	ggc	ggco	gctc	ta g	gaact	agte	g at	ccc	cggg	ctg	cagga	at	240
to	cgti	gctg	g tcg	ccac	aat	ttac	aaac	ca a	ıgaaa	ittaa	ng ca	tcc	tttc	ccc	ccctt	aa	300
aa	ıaaca	itaca	a agt	tttt	taat	ttt	cact	aa g	gcaag	gaaaa	at at	tg gi	g ca	ag co	t cat	gtc	358
											Ме	et Va	al G	ln P	ro His	Val	
												1			5	j	

WO 99/05287	PCT/JP98/03199

atc	tta	aca	aca	ttt	cca	gca	caa	ggc (cat a	itt :	aat	cca	gca	ctt	caa	3.	406	
lle	Leu	Thr	Thr	Phe	Pro	Ala	Gln	Gly I	His :	lle	Asn	Pro	Ala	Leu	Gli	n		
			10					15					20					
ttt	gcc	aag	aat	ctt	gtc	aag.	atg	ggc	ata :	gaa	gtg	aca	ttt	tct	ac	a	454	
Phe	Ala	Lys	Asn	Leu	Val	Lys	Met	Gly	lle	Glu	Val	Thr	Phe	Ser	Th	r		
		25					30					35						
agc	att	tat	gcc	caa	agc	cgt	atg	gat	gaa	aaa	tcc	att	ctt	aat	gc	a	502	
Ser	He	Tyr	Ala	Gln	Ser	Arg	Met	Asp	Glu	Lys	Ser	He	Leu	Asn	Al	a		
	40					45					50							
cca	aaa	. gga	. ttg	aat	ttc	att	cca	ttt	tcc	gat	ggc	ttt	gat	gaa	l gg	gt	550	
Pro	Lys	Gly	Leu	Asn	Phe	Ile	Pro	Phe	Ser	Asp	Gly	Phe	Asp	Glu	ı Gl	l y		
55					60					65					7	70		
ttt	gat	t cal	t tca	ı aaa	a gac	cct	gta	ttt	tac	atg	tca	caa	ctt	. cg1	t aa	aa	598	
Phe	Ası	His	s Sei	r Lys	s Asp	Pro	Val	Phe	Tyr	Met	Ser	Glr	Leu	ı Arş	g L	ys		
				75	5				80					8	5			
tgt	gg	a ag	t ga	a ac	t gto	aaa	aaa	ata	att	cto	act	t g	c to	t ga	a a	at	646	
Cys	GI	y Se	r Gl	u Th	r Val	l Lys	Lys	lle	Ile	Leu	Thr	- Cy	s Se	r Gl	u A	sn		
			9	0				95	i				10	0				
gga	a ca	g cc	t at	a ac	t tg	c cta	cti	tac	tcc	ati	tte	c ct	t cc	t tg	g g	ca	694	
Gl	y Gl	n Pr	o II	e Th	r Cy	s Lei	ı Lei	ı Tyr	Ser	· Ile	e Ph	e Le	u Pr	o Tr	рΑ	la		
		10	5				110)				11	5					
gc	a ga	g gt	a go	a cg	t ga	a gt	t ca	c ato	cct	tc	t gc	t ct	t ct	t tg	gg a	ıgt	742	
A1	a Gl	u Va	1 A1	a Ar	g Gl	u Va	l Hi	s Ile	e Pro	Se	r Al	a Le	u Le	u Tr	тр 8	Ser		
	12	20				12	5				13	0						
ca	a co	ca go	ca a	ca at	ta tt	g ga	c at	a ta	t ta	c tt	c aa	.c t1	t ca	it g	ga	tat	790	
Gl	n Pi	ro Al	la Ti	ır II	le Le	eu As	p [i	е Ту	r Ty	r Ph	e As	n Pl	ne Hi	s G	ly '	Tyr		
13	35				14	10				14	5					150		

gaa	aaa	gct	atg	gct	aat	gaa	tcc	aat	gat	cca	aat	tgg	tcc	att	ca	a 838
Glu	Lys	Ala	Met	Ala	Asn	Glu	Ser	Asn	Asp	Pro	Asn	Trp	Ser	He	Gl	n
				155					160					165		
ctt	ссс	ggg	ctt	cca	cta	ctg	gaa	act	cga	gat	ctt	cct	tca	ttt	t t	a 886
Leu	Pro	Gly	Leu	Pro	Leu	Leu	Glu	Thr	Arg	Asp	Leu	Pro	Ser	Phe	Le	u
			170					175					180			
ctt	cct	tat	ggt	gca	aaa	ggg	agt	ctt	cga	gtt	gca	ctt	cca	cca	tt	.c 934
Leu	Pro	Tyr	Gly	Ala	Lys	Gly	Ser	Leu	Arg	Val	Ala	Leu	Pro	Pro	Ph	ie
		185					190					195				
aaa	gaa	ttg	ata	gac	aca	tta	gat	gct	gaa	acc	act	cct	aag	att	c t	tt 982
Lys	Glu	Leu	Ile	Asp	Thr	Leu	Asp	Ala	Glu	Thr	Thr	Pro	Lys	He	e Le	eu
	200					205					210					
gtg	aat	aca	ttt	gat	gaa	tta	gag	cct	gag	gca	ctc	aat	gca	ati	t g	aa 1030
Val	Asn	Thr	Phe	Asp	Glu	Leu	Glu	Pro	Glu	Ala	Leu	Asn	Ala	. 116	e G	l u
215	,				220)				225	•				2	30
ggt	tat	aag	tti	tat	gga	att	gga	ccg	ttg	att	cct	tct	gct	: tt	c t	tg 1078
Gly	y Tyr	Lys	s Phe	е Туг	Gly	lle	Gly	/ Pro	Leu	ılle	Pro	Ser	· Ala	. Ph	e L	eu
				235	5				240)				24	5	
gg	t gga	a aa	t ga	c cc	t tta	a ga	t gc	t tca	tti	ggt	t ggt	gai	t ct	t tt	t c	aa 1126
Gl	y G1	y Ası	n Ası	p Pro	o Lei	ı Ası	p Ala	a Ser	Phe	e Gly	y Gly	As ₁	le Le	u Ph	e G	iln
			25	0				255	5				26	0		
aa	t tc	a aa	t ga	c ta	t at	g ga	a tg	g tta	aa	c tc	a aag	g cc	a aa	t tc	a t	ca 1174
As	n Se	r As	n As	р Ту	r Me	t GI	u Tr	p Lei	ı Ası	n Se	r Ly:	s Pr	o As	n Se	er S	Ser
		26	5				27	0				27	5			
gt	t gt	t ta	t at	a tc	t tt	t gg	g ag	t ct	a at	g aa	t cc	a tc	t at	t ag	gc (caa 1222
Va	l Va	1 Ty	r 11	e Se	r Ph	e G1	y Se	r Le	u Me	t As	n Pr	o Se	r II	e Se	er (Gln
	28	0				28	5				29	0				

atg	gag	gag	ata	tca	aaa	ggg	ttg	ata :	gac	ata	gga	agg	ccg	ttt	tta	1270
Met	Glu	Glu	Ile	Ser	Lys	Gly	Leu	lle	Asp	lle	Gly	Arg	Pro	Phe	Leu	
295					300					305					310	
tgg	gtg	ata	aaa	gaa	aat	gaa	aaa	ggc	aaa	gaa	gaa	gag	aat	aaa	aag	1318
Trp	Val	He	Lys	Glu	Asn	Glu	Lys	Gly	Lys	Glu	Glu	Glu	Asn	Lys	Lys	
				315					320					325		
ctt	ggt	tgt	att	gaa	gaa	ttg	gaa	aaa	ata	gga	aaa	ata	gtt	cca	tgg	1366
Leu	Gly	Cys	s IIe	Glu	Glu	Leu	Glu	Lys	lle	Gly	Lys	lle	Val	Pro	Trp	
			330)				335					340			
tgt	tca	ca	a ct	gaa	gtt	cta	aaa	cat	cca	tct	tta	gga	tgt	ttt	gtt	1414
Cys	Ser	· G1	n Lei	ı Glu	Val	Leu	Lys	His	Pro	Ser	Leu	Gly	Cys	Phe	e Val	
		34	5				350					355				
tct	cai	t tg	t gg	a tgg	g aat	tca	gcc	tta	gag	agt	tta	gct	tgt	gga	gtg	1462
Ser	His	s Cy	s Gl	y Trị	Asn	Ser	Ala	Leu	Glu	Ser	Leu	Ala	Cys	Gly	y Val	
	360	0				365	i				370)				
cca	gt	t gt	g gc	a tt	t cct	caa	tgg	aca	gat	caa	atg	aca	a aa	t gc	c aaa	1510
Pro	Va	l Va	.1 A1	a Ph	e Pro	Glr	Trp	Thr	Asp	Glr	n Met	: Th	r Ası	n Al:	a Lys	
375	i				380)				385	5				390	
caa	ı gt	t ga	ıa ga	t gt	g tg	g aaa	a agt	gga	gta	aga	a gts	g ag	a at	a aa	t gaa	1558
Gli	n Va	1 G	lu As	p Va	l Tr	p Lys	s Ser	Gly	Val	Ar	g Val	l Ar	g Il	e As	n Glu	
				39	5				400)				40	5	
ga	t gg	t g	tt gi	t ga	a ag	t ga	g gaa	ato	aaa	a ag	g tg	t at	t ga	a tt	g gta	1606
As	p G1	y Va	al Va	al Gl	u Se	r Gl	u Gli	u Ile	e Lys	s Ar	g Cy	s II	e Gl	u Le	u Val	
			4	10				41	5				42	20		
at	g ga	it g	ga g	ga ga	ıg aa	a gg	g ga	a ga	a tt	g ag	a aa	g aa	t go	t aa	ig aaa	1654
Me	t As	sp G	ly G	ly Gl	u Ly	s Gl	y Gl	u Gl	u Le	u Ar	g Ly	s As	n Al	a Ly	s Lys	
		1	25				43	0				43	35			

WO 99/05287	PCT/JP98/03199

1702 tgg aaa gaa ttg gct aga gaa gct gtg aag gaa ggt gga tct tca cac Trp Lys Glu Leu Ala Arg Glu Ala Val Lys Glu Gly Gly Ser Ser His 450 440 445 aag aat tta aag gct ttt att gat gat gtt gcc aaa ggg ttt taatatttac 1754 Lys Asn Leu Lys Ala Phe Ile Asp Asp Val Ala Lys Gly Phe 468 460 465 455 1814 aggettttge egtgatatta etteecetag ttggegatte actetttgtg gaettgettg acaaaaaact gagggaatgt gctaagacac gctaatgctt taagaagtca tttccaaggc 1874 ttgaagcctg cttttaaaac ttattagcca gtaatctata gggttctctt ctatttttct 1934 1994 ctgtctctct ttttagcctt tttctttcca aggtttaaga atagcgtgaa catagcttag tacgtagtct tggtatctct atcttaccaa gtgcaagatt atgcttatgc tgtcctccta 2054 2105 aatttettaa taaaatgeaa gatgaaaaag tacaaaaaaa aaaaaaaaaa a <210>7 < 2 1 1 > 4 6 0 < 2 1 2 > P R T < 2 1 3 > Perilla frutescens < 4 0 0 > 7 Met Val Arg Arg Arg Val Leu Leu Ala Thr Phe Pro Ala Gln Gly His 15 1 5 10 lle Asn Pro Ala Leu Gin Phe Ala Lys Arg Leu Leu Lys Ala Gly Thr 30 20 25 Asp Val Thr Phe Phe Thr Ser Val Tyr Ala Trp Arg Arg Met Ala Asn 35 40 45 Thr Ala Ser Ala Ala Ala Gly Asn Pro Pro Gly Leu Asp Phe Val Ala

65 70 75

55

50

Phe Ser Asp Gly Tyr Asp Asp Gly Leu Lys Pro Cys Gly Asp Gly Lys

60

Arg	Туг	- 1	vie t	Ser	Glu	Met	Lys	Ala	Arg	Gly	Ser	Glu	Ala	Leu	Arg	Asn
					85					90					95	
Leu	Let	ı	Leu	Asn	Asn	His	Asp	Val	Thr	Phe	Val	Val	Tyr	Ser	His	Leu
				100					105					110		
Phe	Ala	a	Trp	Ala	Ala	Glu	Val	Ala	Arg	Glu	Ser	Gln	Val	Pro	Ser	Ala
			115					120					125			
Leu	Le	u	Trp	Val	Glu	Pro	Ala	Thr	Val	Leu	Cys	lle	Tyr	Tyr	Phe	Tyr
	13	0					135					140				
Phe	As	n	Gly	Tyr	Ala	. Asp	Glu	He	Asp	Ala	Gly	Ser	Asp	Glu	He	Gln
145	,					150					155					160
Leu	Pr	.0	Arg	Lei	Pro	Pro	Leu	Glu	Gln	Arg	Ser	Leu	Pro	Thr	Phe	Leu
					165	5				170					175	
Lei	ı Pı	٠0	Glı	ı Thi	r Pro	Glu	ı Arg	Phe	Arg	Leu	Met	Met	Lys	Glu	Lys	Leu
				180)				185	;				190		
Gli	ı Tl	hr	Lei	ı Ası	p GI:	y Glu	a Glu	ı Lys	s Ala	Lys	. Val	Leu	Val	Asn	Thr	Phe
			19	5				200)				205	i		
As	рΑ	la	Le	u G1	u Pr	o As	p Ala	a Le	u Thi	r Ala	ı Ile	. Asp	Arg	Tyr	Glu	Leu
	2	10)				21	5				220)			
11	e G	l y	11	e Gl	y Pr	o Le	u II	e Pr	o Se	r Ala	a Phe	e Leu	ı Asp	Gly	Gly	Asp
22	5					23	0				235	5				240
Pr	o S	eı	- G1	u Th	ır Se	г Ту	r Gl	y Gl	y As	p Le	u Pho	e Glu	ı Ly:	s Se	r Gli	ı Glu
					24	15				25	0				25	5
As	n A	SI	ı Cy	's Va	1 G1	u Tr	p Le	u As	p Th	r Ly	s Pr	o Ly	s Se	r Se	r Va	l Val
				26	30				26	5				27	0	
Ty	r V	/a	l Se	er Pl	ne G	ly Se	er Va	ıl Le	eu Ar	g Ph	e Pr	o Ly	s Al	a Gl	n Me	t Glu
			27	75				28	30				28	5		
G	l u	I 1	e G	ly L	ys G	ly L	eu Le	eu Al	la Cy	s GI	y Ar	g Pr	o Ph	e Le	u Tr	p Met

lle Arg Glu Gln Lys Asn Asp Asp Gly Glu Glu Glu Glu Glu Leu Ser Cys Ile Gly Glu Leu Lys Lys Met Gly Lys Ile Val Ser Trp Cys Ser Gln Leu Glu Val Leu Ala His Pro Ala Leu Gly Cys Phe Val Thr His Cys Gly Trp Asn Ser Ala Val Glu Ser Leu Ser Cys Gly Val Pro Val Val Ala Val Pro Gln Trp Phe Asp Gln Thr Thr Asn Ala Lys Leu lle Glu Asp Ala Trp Gly Thr Gly Val Arg Val Arg Met Asn Glu Gly Gly Gly Val Asp Gly Ser Glu Ile Glu Arg Cys Val Glu Met Val Met Asp Gly Gly Glu Lys Ser Lys Leu Val Arg Glu Asn Ala Ile Lys Trp Lys Thr Leu Ala Arg Glu Ala Met Gly Glu Asp Gly Ser Ser Leu Lys Asn Leu Asn Ala Phe Leu His Gln Val Ala Arg Ala <210>8 < 2 1 1 > 4 4 3 < 2 1 2 > PRT < 2 1 3 > Perilla frutescens

< 4 0 0 > 8

Met	Val	Arg	Arg	Arg	Val	Leu	Leu	Ala	Thr	Phe	Pro	Ala	Gln	Gly	His
1				5					10					15	
He	Asn	Pro	Ala	Leu	Gln	Phe	Ala	Lys	Arg	Leu	Leu	Lys	Ala	Gly	Thr
			20					25					30		
Asp	Val	Thr	Phe	Phe	Thr	Ser	Val	Tyr	Ala	Trp	Arg	Arg	Met	Ala	Asn
		35					40					45			
Thr	Ala	Ser	Ala	Ala	Ala	Gly	Asn	Pro	Pro	Gly	Leu	Asp	Phe	Val	Ala
	50					55					60				
Phe	Ser	Asp	Gly	Tyr	Asp	Asp	Gly	Leu	Lys	Pro	Gly	Gly	Asp	Gly	Lys
65					70					75					80
Arg	Tyr	Met	Ser	Glu	Met	Lys	Ala	Arg	Gly	Ser	Glu	Ala	Leu	Arg	Asn
				85	i				90)				95	
Leu	Leu	Let	ı Asr	ı Asn	Asp	Asp	Val	Thr	Phe	e Val	Val	Туі	Ser	His	Leu
			100)				105					110)	
Phe	e Ala	ı Tr	Ala	a Ala	ı Glı	ı Val	Ala	a Arg	Leu	ı Sei	His	s Va	l Pro	Thr	- Ala
		115	5				120)				12	5		
Lei	ı Lei	u Tr	p Va	l Gl	u Pro	o Ala	a Thi	r Val	Le	и Су:	s II	е Ту	r Hi	s Phe	e Tyr
	13	0				13	5				14	0			
Ph	e As	n Gl	у Ту	r Ala	a As	p G1	u II	e Ası	Al:	a Gl	y Se	r As	n G1	u II	e Gln
14	5				15	0				15	5				160
Le	u Pr	o Ar	g Le	u Pr	o Se	r Le	u Gl	u Gl	n Ar	g Se	r Le	u Pr	o Th	r Ph	e Leu
				16	5				17	0				17	5
Le	u Pr	o Al	a Th	ır Pr	o G1	u Ar	g Ph	e Ar	g Le	u Me	t Me	t Ly	s Gl	u Ly	s Leu
			18	30				18	5				19	00	
GI	u Th	nr Le	eu As	sp Gl	y Gl	u G1	u Ly	s Al	a Ly	/s Va	ıl Le	eu Va	al As	n Th	ır Phe
		19	95				20	00				20	05		

Asp	Ala	Leu	Glu	Pro	Asp	Ala	Leu	Thr	Ala	lle.	Asp.	Arg	Tyr	Glu	Leu
	210					215					220				
Пе	Gly	lle	Gly	Pro	Leu	lle	Pro	Ser	Ala	Phe	Leu	Asp	Gly	Glu	Asp
225					230					235					240
Pro	Ser	Glu	Thr	Ser	Tyr	Gly	Gly	Asp	Leu	Phe	Glu	Lys	Ser	Glu	Glu
				245					250					255	
Asn	Asn	Cys	Val	Glu	Trp	Leu	Asn	Ser	Lys	Pro	Lys	Ser	Ser	Val	Val
			260					265					270		
Tyr	Val	Ser	Phe	Gly	Ser	Val	Leu	Arg	Phe	Pro	Lys	Ala	Gin	Met	Glu
		275					280					285			
Glu	lle	Gly	Lys	Gly	Leu	Leu	Ala	Cys	Gly	Arg	Pro	Phe	Leu	Trp	Met
	290					295					300				
lle	Arg	Glu	Gln	Lys	Asn	Asp	Asp	Gly	Glu	Glu	Glu	Glu	Glu	Glu	Glu
305					310					315					320
Glu	Leu	Ser	Cys	Ile	Gly	Glu	Leu	Lys	Lys	Met	Gly	Lys	Ile	Val	Ser
				325					330					335	
Trp	Cys	Ser	Gln	Leu	Glu	Val	Leu	Ala	His	Pro	Ala	Leu	Gly	Cys	Phe
			340)				345					350		
Val	Thr	His	Cys	Gly	Trp	Asn	Ser	Ala	Val	Glu	Ser	Leu	Ser	Cys	Gly
		355	5				360)				365			
Πŧ	e Pro	Va:	l Val	Ala	l Val	Pro	Glr	Trp	Phe	Asp	Gln	Thr	Thr	Asn	Ala
	370)				375	5				380				
Lys	s Lei	ı Ile	e GI	ı Ası	Ala	Trp	Gly	Thr	Gly	/ Val	Arg	Val	Arg	Met	Asn
385	5				390)				395	i				400
Gl	u Gl	y G1:	y Gl	y Va	l Ası	Gly	y Cys	Glu	1 116	e Glu	Arg	Cys	Va!	Glu	ı Met
				40	5				410)				415	;

Val Met Asp Gly Gly Asp Lys Thr Lys Leu Val Arg Glu Asn Ala Ile 430 425 420 Lys Trp Lys Thr Leu Ala Arg Gln Ala Met Gly 443 435 440 <210>9 < 2 1 1 > 4 6 1 < 2 1 2 > P R T < 2 1 3 > Verbena hybrida < 4 0 0 > 9 Met Ser Arg Ala His Val Leu Leu Ala Thr Phe Pro Ala Gln Gly His 15 10 1 5 lle Asn Pro Ala Leu Gln Phe Ala Lys Arg Leu Ala Asn Ala Asp Ile 25 20 Gln Val Thr Phe Phe Thr Ser Val Tyr Ala Trp Arg Arg Met Ser Arg 45 40 35 Thr Ala Ala Gly Ser Asn Gly Leu Ile Asn Phe Val Ser Phe Ser Asp 55 Gly Tyr Asp Asp Gly Leu Gln Pro Gly Asp Asp Gly Lys Asn Tyr Met 75 65 Ser Glu Met Lys Ser Arg Gly Ile Lys Ala Leu Ser Asp Thr Leu Ala 85 90 Ala Asn Asn Val Asp Gln Lys Ser Ser Lys lle Thr Phe Val Val Tyr 105 100 Ser His Leu Phe Ala Trp Ala Ala Lys Val Ala Arg Glu Phe His Leu 120

140

Arg Ser Ala Leu Leu Trp Ile Glu Pro Ala Thr Vai Leu Asp Ile Phe

135

Tyr	Phe	Tyr	Phe	Asn	Gly	Tyr	Ser	Asp (Glu	lle	Asp	Ala	Gly	Ser	Asp
145					150					155					160
Ala	lle	His	Leu	Pro	Gly	Gly	Leu	Pro	Val	Leu	Ala	Gln	Arg	Asp	Leu
				165					170					175	
Pro	Ser	Phe	Leu	Leu	Pro	Ser	Thr	His	Glu	Arg	Phe	Arg	Ser	Leu	Met
			180					185					190		
Lys	Glu	Lys	Leu	Glu	Thr	Leu	Glu	Gly	Glu	Glu	Lys	Pro	Lys	Val	Leu
		195					200					205			
Val	Asn	Ser	Phe	Asp	Ala	Leu	Glu	Pro	Asp	Ala	Leu	Lys	Ala	He	Asp
	210					215					220				
Lys	Tyr	Glu	Met	Пe	Ala	lle	Gly	Pro	Leu	He	Pro	Ser	Ala	Phe	Leu
225					230					235					240
Asp	Gly	Lys	Asp	Pro	Ser	Asp	Arg	Ser	Phe	Gly	Gly	Asp	Leu	Phe	Glu
				245					250					255	
Lys	Gly	Ser	Asn	Asp	Asp	Asp	Cys	Leu	Glu	Trp	Leu	Ser	Thr	Asn	Pro
			260)				265					270		
Arg	Sei	er Ser	· Val	Val	Tyr	Val	Ser	Phe	Gly	Ser	Phe	. Val	Asn	Thr	Thr
		275	5				280)				285	i		
Lys	Se	r Gli	n Met	t Glu	ı Glu	116	e Ala	ı Arg	Gly	Lei	ı Lev	ı Asp	Cys	Gly	Arg
	29	0				29	5				300)			
Pro) Ph	e Le	u Tr	p Val	l Val	Ar	g Val	l Asn	Gli	ı Gl	y Glu	ı Glu	ı Val	Leu	lle
305	5				310)				31	5				320
Se	r Cy	s Me	t Gl	u Gl	u Lei	ı Ly	s Arı	g Val	Gl	y Ly	s II	e Va	l Se	r Tri	Cys
				32	5				33	0				335	5
Se	r Gl	n Le	u Gl	u Va	l Lei	u Th	r Hi	s Pro	Se.	r Le	u Gl	у Су	s Ph	e Va	l Thr
			34	0				345	5				35	0	

His Cys Gly Trp Asn Ser Thr Leu Glu Ser Ile Ser Phe Gly Val Pro 365 360 355 Met Val Ala Phe Pro Gln Trp Phe Asp Gln Gly Thr Asn Ala Lys Leu 380 375 370 Met Glu Asp Val Trp Arg Thr Gly Val Arg Val Arg Ala Asn Glu Glu 395 400 390 385 Gly Ser Val Val Asp Gly Asp Glu lle Arg Arg Cys lle Glu Glu Val 410 415 405 Met Asp Gly Gly Glu Lys Ser Arg Lys Leu Arg Glu Ser Ala Gly Lys 420 425 430 Trp Lys Asp Leu Ala Arg Lys Ala Met Glu Glu Asp Gly Ser Ser Val 440 445 435 Asn Asn Leu Lys Val Phe Leu Asp Glu Val Val Gly Ile 455 460 461 450 <210>10 < 2 1 1 > 4 7 8 < 2 1 2 > PRT < 2 1 3 > Torenia hybrida <220> <221> < 2 2 2 > \langle 2 2 3 \rangle Xaa (64) is Cys or Phe, Xaa (65) is Ser or Pro. < 4 0 0 > 1 0 Met Val Asn Lys Arg His Ile Leu Leu Ala Thr Phe Pro Ala Gln Gly 15

His Ile Asn Pro Ser Leu Glu Phe Ala Lys Arg Leu Leu Asn Thr Gly

5

30 25 20

3 0 / 3 7

Tyr	Val	Asp	Gln	Val	Thr	Phe 1	Phe '	Thr S	Ser	Val	Tyr	Ala	Leu	Arg	Arg	
		35					40					45				
Met	Arg	Phe	Glu	Thr	Asp	Pro	Ser	Ser	Arg	lle	Asp	Phe	Val	Ala	Xaa	
	50					55					60					
Xaa	Asp	Ser	Tyr	Asp	Asp	Gly	Leu	Lys	Lys	Gly	Asp	Asp	Gly	Lys	Asn	
65					70					75					80	
Tyr	Met	Ser	Glu	Met	Arg	Lys	Arg	Gly	Thr	Lys	Ala	Leu	Lys	Asp	Thr	
				85					90					95		
Leu	Ile	Lys	Leu	Asn	Asp	Ala	Ala	Met	Gly	Ser	Glu	Cys	Tyr	Asn	Arg	
			100					105					110			
Val	Ser	Phe	Val	Val	Tyr	Ser	His	Leu	Phe	Ser	Trp	Ala	Ala	Glu	Val	
		115	,				120					125	i			
Ala	. Arg	Glu	ı Val	Asp	Val	Pro	Ser	Ala	Leu	Leu	Trp	Ile	Glu	Pro	Ala	
	130)				135					140	1				
Thr	· Val	l Phe	e Asp	Val	Tyr	Tyr	Phe	Tyr	Phe	Asn	Gly	Туг	Ala	Asp	Asp	
145	5				150)				155	;				160	
H	e Ası	p Ala	a Gly	y Ser	· Asp	Gln	He	Gln	Leu	Pro	Asr	Lei	u Pro	Gli	n Leu	
				165	5				170)				179	5	
Se	r Ly	s Gl	n Ası	p Lei	ı Pro) Ser	Phe	e Leu	Lei	Pro	Sei	r Se	r Pro	o Ala	a Arg	
			180	0				185	,				190	0		
Ph	e Ar	g Th	r Le	u Me	t Ly	s Glu	ı Lys	s Phe	e Ası	p Th	r Le	u As	p Ly	s Gl	u Pro	
		19					200					20				
Ly	s Al	a Ly	s Va	l Le	u II	e Ası	n Th	r Phe	e As	p Al	a Le	u Gl	u Th	r Gl	u Gln	
	21	.0				21	5				22	0				
Le	u Ly	s Al	a Il	e As	p Ar	g Ty	r Gl	u Lei	u II	e Se	r II	e Gl	y Pr	o Le	u Ile	
22	25				23	0				23	5				240	

Pro	Ser	Ser	Ile	Phe	Ser	Asp	Gly	Asn	Asp	Pro	Ser	Ser	Ser	Asn	Lys
				245					250					255	
Ser	Tyr	Gly	Gly	Asp	Leu	Phe	Arg	Lys	Ala	Asp	Glu	Thr	Tyr	Met	Asp
			260					265					270		
Trp	Leu	Asn	Ser	Lys	Pro	Glu	Ser	Ser	Val	Val	Tyr	Val	Ser	Phe	Gly
		275					280					285			
Ser	Leu	Leu	Arg	Leu	Pro	Lys	Pro	Gln	Met	Glu	Glu	lle	Ala	He	Gly
	290					295					300				
Leu	Ser	Asp	Thr	Lys	Ser	Pro	Val	Leu	Trp	Val	He	Arg	Arg	Asn	Glu
305					310					315					320
Glu	Gly	Asp	Glu	Gln	Glu	Gln	Ala	Glu	Glu	Glu	Glu	Lys	Leu	Leu	Ser
				325					330					335	
Phe	Phe	Asp	Arg	His	Gly	Thr	Glu	Arg	Leu	Gly	Lys	lle	Val	Thr	Trp
			340					345					350		
Cys	Ser	Gln	Leu	Asp	Val	Leu	Thr	His	Lys	Ser	Val	Gly	Cys	Phe	Val
		355	i				360					365			
Thr	His	Cys	Gly	Trp	Asn	Ser	Ala	ile	Glu	Ser	Leu	Ala	Cys	Gly	Val
	370)				375	i				380				
Pro	Val	Val	Cys	s Phe	e Pro	Gln	Trp	Phe	Asp	Gln	Gly	Thr	Asn	Ala	Lys
385	5				390)				395	ı				400
Me	t Ile	e Glu	ı Ası	Va!	Trp	Arg	Ser	Gly	Val	Arg	Val	Arg	Val	Asn	Glu
				405	5				410)				415	j
Gl	u Gl	y Gl	y Va	l Va	l Asp	Arg	g Arg	g Glu	ı Ile	e Lys	Arg	Cys	Val	Ser	Glu
			42	0				425	j				430)	
Va	1 11	e Ly	s Se	r Ar	g Gli	ı Lei	u Arg	g Glu	se:	r Ala	Met	. Met	Tr	Lys	Gly
		43	5				440)				445	5		

PCT/JP98/03199 WO 99/05287

Leu Ala Lys Glu Ala Met Asp Glu Glu Arg Gly Ser Ser Met Asn Asn

Leu Lys Asn Phe Ile Thr Arg Ile Ile Asn Glu Asn Ala Ser

<210>11

<211>35

<212>PRT

< 2 1 3 > Perilla frutescens

< 4 0 0 > 1 1

Met Ser Ser Ser Ser Arg Arg Trp Arg Glu Asn Glu Gly Met Arg

Arg Thr Leu Leu Gly Leu Gly Leu Gly Gln Leu Val Ser Phe Asp Leu

Ala Ile Met Thr Phe Ser Ala Ser Leu Val Ser Thr Thr Val Asp Ala

Pro Leu Thr Met Ser Phe Thr Thr Tyr Thr Val Val Ala Leu Leu Tyr

Gly Thr Ile Leu Leu Tyr Arg Arg His Lys Phe Leu Val Pro Trp Tyr

Trp Tyr Ala Leu Leu Gly Phe Val Asp Val His Gly Asn Tyr Leu Val

Asn Lys Ala Phe Glu Leu Thr Ser Ile Thr Ser Val Ser Ile Leu Asp

Cys Trp Thr lle Val Trp Ser Ile Ile Phe Thr Trp Met Phe Leu Gly

Thr Lys Tyr Ser Val Tyr Gln Phe Val Gly Ala Ala Ile Cys Val Gly

Gly :	Leu	Leu	Leu	Val	Leu	Leu	Ser	Asp	Ser	Gly	Val'	Thr	Ala /	Ala (Gly
145					150					155					160
Ser	Asn	Pro	Leu	Leu	Gly	Asp	Phe	Leu	Val	lle	Thr	Gly	Ser	lle	Leu
				165					170					175	
Phe	Thr	Leu	Ser	Thr	Val	Gly	Gln	Glu	Tyr	Cys	Val	Lys	Arg	Lys	Asp
			180					185					190		
Arg	Ile	Glu	Val	Val	Ala	Met	He	Gly	Val	Phe	Gly	Met	Leu	lle	Ser
		195					200					205			
Ala	Thr	Glu	Ile	Thr	Val	Leu	Glu	Arg	Asn	Ala	Leu	Ser	Ser	Met	Gln
	210					215					220				
Trp	Ser	Thr	Gly	Leu	Leu	Ala	Ala	Tyr	Val	Val	Tyr	Ala	Leu	Ser	Ser
225					230)				235					240
Phe	Leu	Phe	Cys	Thr	Leu	Thr	Pro	Phe	Leu	Leu	Lys	Met	Ser	Gly	Ala
				245	i				250)				255	
Ala	Phe	e Phe	e Ası	n Lei	ı Sei	Met	t Lev	Thr	Ser	Asp	Met	Trp	Ala	Val	Ala
			260	0				265	i				270		
He	Ar	g Th	r Ph	e II	e Ty	r Ası	n Glr	n Glu	ı Val	Asp	Trp	Leu	Tyr	Tyr	Leu
		27	5				280)				285	,		
Ala	. Ph	е Су	s Le	u Va	l Va	l Va	1 G1	y Ile	e Pho	e 116	e Tyr	- Thr	Lys	Thr	Glu
	29	0				29	5				300)			
Lys	s As	p Pr	o As	n As	n Th	r Ar	g Al	a Lei	u Gl	u Ası	n Gly	y Ası	n Leu	ı Asp	His
309	5				31	0				31	5				320
Gl	u Ty	r Se	r Le	eu Le	u G1	u As	p Gl	n As	p As	p Th	r Pr	o Ar	g Lys	Pro	ס
				32	:5				33	0				33	5
< 2	1	0 >	1 2	2		٠									
< 2	1	1 >	4 (8 8											
< 2	1	2 >	ΡI	RΤ											

3 4 / 3 7

< 2 1 3 > Petunia hybrida (400) 12 Met Val Gln Pro His Val Ile Leu Thr Thr Phe Pro Ala Gln Gly His Ile Asn Pro Ala Leu Gin Phe Ala Lys Asn Leu Val Lys Met Gly Ile Glu Val Thr Phe Ser Thr Ser Ile Tyr Ala Gln Ser Arg Met Asp Glu Lys Ser lle Leu Asn Ala Pro Lys Gly Leu Asn Phe Ile Pro Phe Ser Asp Gly Phe Asp Glu Gly Phe Asp His Ser Lys Asp Pro Val Phe Tyr Met Ser Gln Leu Arg Lys Cys Gly Ser Glu Thr Val Lys Lys Ile Ile Leu Thr Cys Ser Glu Asn Gly Gln Pro Ile Thr Cys Leu Leu Tyr Ser lle Phe Leu Pro Trp Ala Ala Glu Val Ala Arg Glu Val His Ile Pro Ser Ala Leu Leu Trp Ser Gln Pro Ala Thr lle Leu Asp Ile Tyr Tyr Phe Asn Phe His Gly Tyr Glu Lys Ala Met Ala Asn Glu Ser Asn Asp Pro Asn Trp Ser lle Gln Leu Pro Gly Leu Pro Leu Leu Glu Thr Arg Asp Leu Pro Ser Phe Leu Leu Pro Tyr Gly Ala Lys Gly Ser Leu Arg

Val /	Ala	Leu	Pro	Pro	Phe	Lys (Glu I	Leu	lle I	Asp]	inr i	Leu	Asp	Ala	Glu	l
		195				:	200					205				
Thr '	Thr	Pro	Lys	He	Leu	Val	Asn '	Thr I	Phe	Asp (Glu	Leu	Glu	Pro	Glu	1
	210					215				:	220					
Ala	Leu	Asn	Ala	Ile	Glu	Gly	Tyr	Lys	Phe	Tyr	Gly	lle	Gly	Pro	Le	u
225					230					235					24	0
Ile	Pro	Ser	Ala	Phe	Leu	Gly	Gly	Asn	Asp	Pro	Leu	Asp	Ala	Ser	Ph	е
				245					250					255		
Gly	Gly	Asp	Leu	Phe	Gin	Asn	Ser	Asn	Asp	Tyr	Met	Glu	Trp	Leu	As	n
			260					265					270			
Ser	Lys	Pro	Asn	Ser	Ser	Val	Val	Tyr	lle	Ser	Phe	Gly	Ser	Lei	Me	t
		275					280					285	j			
Asn	Pro	Ser	· He	e Ser	· G1r	Met	Glu	Glu	lle	Ser	Lys	Gly	Le	u Ile	e As	sp
	290)				295					300	ı				
Ile	G1;	y Arg	g Pro	o Phe	e Lei	ı Trp	Val	Ile	Lys	Glu	Asn	Gli	u Ly	s GI	y L	ys
					310	0				315					3	20
305	,															
		u Gl	u As	n Ly	s Ly	s Leu	Gly	Cys	He	Glu	Glu	ı Le	u Gl	u Ly	s I	le
		u Gli	u As	n Ly 32		s Leu	ı Gly	/ Cys	11e		Glu	ı Le	u G1	u Ly 33		le
Glu	ı Gl			32	5	s Leu p Cys			330)				33	5	
Glu	ı Gl			32 1 Pr	5				330 Leu)				33 's Hi	5	
Glu	ı Gl	s II	e Va 34	32 1 Pr 0	5 o Tr		s Sei	r Gln 345	330 Leu) . Glu	ı Val	l Le	u Ly 35	33 's Hi 50	5 s P	ro
Glu	ı Gl	s II	e Va 34 y Cy	32 1 Pr 0	5 o Tr	p Cys	s Sei	r Glr 345 s Cys	330 Leu) . Glu	ı Val	l Le	u Ly 35 er Al	33 's Hi 50	5 s P	ro
Glu Gly Ser	ı Gl y Ly r Le	s II eu GI 35	e Va 34 y Cy 55	32 1 Pr 0 vs Ph	5 o Tr e Va	p Cys	s Ser r Hi: 36	r Glr 345 s Cys	330 Leu 5 Gly) ı Glu y Trı	ı Val	l Le n Se 36	u Ly 35 er Al	33 's Hi 50 ia Le	5 s P eu C	ro
Glu Gly Ser	ı Gl y Ly r Le	s II eu Gl 35 eu Al	e Va 34 y Cy 55	32 1 Pr 0 vs Ph	5 o Tr e Va	p Cys	s Sei r Hi: 36 o Va	r Glr 345 s Cys	330 Leu 5 Gly) ı Glu y Trı	ı Val	l Le n Se 36 o Gi	u Ly 35 er Al	33 's Hi 50 ia Le	5 s P eu C	ro
Glu Gly Ser	Gl V Ly T Le 37	s II au GI 35 au Al	e Va 34 y Cy 55 a Cy	32 1 Pr 0 7s Ph	5 o Tr e Va	p Cys	s Ser r Hi: 36 o Va	r Glm 345 s Cys 0 1 Va	330 Lev 5 S Gl:) 1 Glu y Tri a Pho	o Assee Pr	1 Le n Se 36 o G1	u Ly 35 er Al 65 In Ti	33 's Hi 50 ia Le rp Ti	5 s P eu C	lu

Arg Val Arg lle Asn Glu Asp Gly Val Val Glu Ser Glu Glu lle Lys
405 410 415

Arg Cys Ile Glu Leu Val Met Asp Gly Gly Glu Lys Gly Glu Glu Leu 420 425 430

Arg Lys Asn Ala Lys Lys Trp Lys Glu Leu Ala Arg Glu Ala Val Lys
435 440 445

Glu Gly Gly Ser Ser His Lys Asn Leu Lys Ala Phe Ile Asp Asp Val

Ala Lys Gly Phe

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP98/03199 CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER Int.Cl6 C12N15/54, C12N9/10, A01H1/00 According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC B. FIELDS SEARCHED Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) Int.Cl⁶ C12N15/54, C12N9/10, A01H1/00 Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used) SwissProt/PIR/GeneSeq C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages Relevant to claim No. Category* EP, 771878, A1 (PLANT GENETIC SYSTEMS NV), 7 May, 1997 (07. 05. 97) 1-11 & WO, 97/16559, A1 Science. Vol. 265 (1994) Szerszen, J.B et al., 1 - 11Α "iaglu, a gene from Zea mays involeved in conjugation of growth hormone indole-3-acetic acid." p.1699-1701 WO, 96/00291, A1 (RESEARCH CORP TECHNOLOGIES INC.), 1-11 Α 4 January, 1996 (04. 01. 96) See patent family annex. Further documents are listed in the continuation of Box C. later document published after the international filing date or priority Special categories of cited documents: document defining the general state of the art which is not date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention "A" considered to be of particular relevance earlier document but published on or after the international filing date document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other when the document is taken alone document of particular relevance; the claimed invention cannot be special reason (as specified) considered to involve an inventive step when the document is **"**O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art document published prior to the international filing date but later than document member of the same patent family the priority date claimed Date of mailing of the international search report Date of the actual completion of the international search 18 September, 1998 (18. 09. 98) 29 September, 1998 (29. 09. 98) Name and mailing address of the ISA/ Authorized officer Japanese Patent Office Telephone No.

Form PCT/ISA/210 (second sheet) (July 1992)

Facsimile No.

国際調査報告

国際出願番号 PCT/JP98/03199

		/00	
調査を行った昂	innt分野 hy小限資料(国際特許分類(IPC))		
Int.Cl ⁶ C 1	2N15/54, C12N9/10, A01H	1/00	
最小限資料以外	トの資料で調査を行った分野に含まれるもの		
	月した電子データベース(データベースの名称、 PIR/GeneSeq	調査に使用した用語)	
	ると認められる文献		
引用文献の カテゴリー*	 引用文献名 及び一部の箇所が関連すると	きは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
A	EP, 771878, A1 (PLANT GENETIC SYSTE & WO, 97/16559, A1		1-11
A	Science.vol.265(1994)Szerszen, J.B 「iaglu, a gene from Zea mays inv of growth hormone indole-3-ace	oleved in conjugation	1-11
A	WO, 96/00291, A1 (RESEARCH CORP TEC 4.1月.1996(04.01.96)	CHNOLOGIES INC.)	1-11
□ C欄の続	きにも文献が列挙されている。	□ パテントファミリーに関する別	紙を参照。
もの 「E」先行文i の 「L」優先若し 文献 (i 「O」口頃に	のカテゴリー 連のある文献ではなく、一般的技術水準を示す 就ではあるが、国際出願日以後に公表されたも 主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行 くは他の特別な理由を確立するために引用する 理由を付す) よる開示、使用、展示等に言及する文献 願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願	の日の後に公表された文献 「T」国際出願日又は優先日後に公表: て出願と矛盾するものではなく、 論の理解のために引用するもの 「X」特に関連のある文献であって、 の新規性又は進歩性がないと考: 「Y」特に関連のある文献であって、 上の文献との、当業者にとって よって進歩性がないと考えられ: 「&」同一パテントファミリー文献	発明の原理又は理 当該文献のみで発明 えられるもの 当該文献と他の1以 自明である組合せに
国際調査を完	了した日 18.09.98	国際調査報告の発送日 29.09	9.98
日本	の名称及びあて先 国特許庁(ISA/JP) 郵便番号100-8915 都千代田区霞が関三丁目4番3号	特許庁審査官(権限のある職員) 新見 浩一 月 電話番号 03-3581-1101	